

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE DE TOULOUSE

Diplôme d'Etudes Approfondies:
Traitements des Matières Premières Végétales
Option: Nouvelles Technologies en Production Végétale

INCIDENCE DES FACTEURS DE CROISSANCE IN VITRO
SUR LE TRANSFERT DES PLANTS DE BANANIER cv. PETITE NAINE.

par Luis Cuauhtémoc NAVARRO MASTACHE

Mémoire soutenu le 24 septembre 1987

Membres du Jury:

M. Philippe MORARD
M. Claude TEISSON
M. Jacky GANRY
M. Jean MARCHAL
M. Paul G. SCHOCH

Laboratoire de Culture In Vitro
Institut de Recherches sur les Fruits et Agrumes
Centre de Coopération Internationale
en Recherche Agronomique pour le Développement

"Le document ci-joint est le résultat d'un travail effectué
par un étudiant de D.E.A.

Il est tel qu'il a été remis par l'étudiant et ne comporte
aucune correction ni commentaire.

Il doit être considéré comme un exercice scolaire."

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont aidé et encouragé à mener à bien la réalisation de ce travail.

Que soit plus particulièrement remercié Monsieur Claude BIGOT, professeur à l'Ecole Nationale Supérieure d'Horticulture de Versailles, sans lequel l'acceptation au D.E.A. n'aurait pas été possible.

Je suis reconnaissant à Monsieur Philippe MORARD, professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, de m'avoir accepté dans le D.E.A. de "Nouvelles Technologies en Production Végétale" et de m'avoir soutenu devant la Commission d'Equivalences.

J'associe ces remerciements à Madame LIQUORI, secrétaire du D.E.A. qui m'a spécialement aidé dans mon acceptation définitive à ces études.

Je remercie très vivement Monsieur Claude TEISSON, Directeur du Laboratoire de Culture In Vitro du C.I.R.A.D. à Montpellier, qui m'a accueilli en stage et qui a dirigé les travaux de recherche de ce D.E.A.

Je remercie également les chercheurs qui m'ont guidé dans le déroulement des expériences réalisées.

J'adresse mes remerciements à Monsieur Paul G. SCHÖCH de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Montfavet, pour son aide et conseils dans la planification des expériences et dans le domaine de la Bio-Climatologie.

Messieurs Jean MARCHAL et Michel FOLLIOU du Laboratoire de Physiologie Végétale de l'I.R.F.A. ont su me diriger dans la réalisation et l'interprétation des analyses minérales et organiques. Qu'ils trouvent ici ma sincère reconnaissance.

Monsieur Xavier PERRIER et Mademoiselle Dominique MUNSCH du Service de Biométrie de l'I.R.F.A., m'ont toujours guidé dans la réalisation et l'interprétation des analyses statistiques des données. Qu'ils trouvent ici mes remerciements amicaux.

Monsieur Jacky GANRY, Directeur du Programme de Recherches sur les Bananiers à l'I.R.F.A., a suivi avec intérêt ces travaux de recherche. Je le remercie de son appui.

Que Monsieur Jean-Baptiste DANQUECHIN-DORVAL, Directeur de l'entreprise VITROPIC, trouve ici l'expression de mes sincères remerciements pour la fourniture du matériel végétal.

Le personnel du Laboratoire de Culture In Vitro, du Centre de Documentation, des Laboratoires des Analyses Minérales et Organiques, et de l'I.R.F.A. en général ont su m'apporter leur assistance et leur soutien. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude.

Je remercie enfin le gouvernement Mexicain, qui à travers le C.O.N.A.C.y.T. m'a offert la possibilité de réaliser mes études en France.

SOMMAIRE

	Pages
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>I. REVISION BIBLIOGRAPHIQUE</u>	6
1. <u>Présentation de la plante</u>	6
1.1. <u>Origine et dispersion de la culture du bananier..</u>	6
1.2. <u>Systématique et botanique</u>	8
2. <u>L'environnement affectant la croissance et la.....</u>	10
<u>morphogenèse "in vitro"</u>	10
2.1. <u>Le rôle de la lumière</u>	12
2.2. <u>L'autotrophie de la plante "in vitro"</u>	16
2.3. <u>Les échanges gazeux</u>	17
3. <u>Le rôle des facteurs physiques dans la micropropagation</u> <u>et l'acclimatation des vitroplants</u>	19
 <u>II. MATERIELS ET METHODES</u>	 24
1. <u>Matériel végétal</u>	24
2. <u>Méthodes</u>	25
2.1. <u>Techniques "in vitro"</u>	25
2.1.1. <u>Facteurs étudiés - Traitements</u>	25
2.1.2. <u>Localisation des traitements</u>	25
2.2. <u>Techniques "in vivo". Description du mode de</u> <u>sevrage</u>	29
2.2.1. <u>Conditions physiques du sevrage</u>	29
2.2.2. <u>La nutrition des vitroplants en sevrage...</u>	30
3. <u>Paramètres - Prélèvement des données</u>	33
3.1. <u>Paramètres mesurés</u>	33
3.2. <u>L'analyse statistique des données</u>	35
4. <u>Les analyses</u>	35
4.1. <u>Les analyses minérales</u>	36
4.2. <u>Les analyses des sucres</u>	36

4.2.1. Préparation des aliquotes du milieu gélifié	36
4.2.2. Préparation des aliquotes du matériel végétal	37
4.2.3. Dosage des sucres	37
4.3. <u>Les analyses de chlorophylles</u>	38
III. RESULTATS ET DISCUSSION	40
1. Résultats par groupe d'expériences	40
1.1. <u>Groupe d'expériences N°1</u>	40
1.1.1. Résultats "in vitro"	40
1.1.2. Résultats "in vivo"	41
1.2. <u>Groupe d'expériences N°2</u>	45
1.2.1. Effets du conteneur	45
1.2.1.1. <u>In vitro</u>	45
1.2.1.2. <u>In vivo</u>	47
1.2.2. Effets du charbon actif	50
1.3. <u>Groupe d'expériences N°3</u>	50
1.3.1. Résultats "in vitro"	51
1.3.2. Résultats "in vivo"	53
1.4. <u>Groupe d'expériences N°4</u>	56
1.4.1. Résultats "in vitro"	56
1.4.2. Résultats "in vivo"	57
1.5. <u>Groupe d'expériences N°5</u>	57
1.5.1. Résultats "in vitro"	57
1.5.2. Résultats "in vivo"	60
1.6. <u>Groupe d'expériences N°6</u>	60
2. Effets des facteurs étudiés	62
2.1. <u>Effets de l'intensité lumineuse</u>	62
2.2. <u>Effets de la photopériode à 60 W.m⁻²</u>	64
2.3. <u>Effets du type de bouchage</u>	64

	Pages
2.4. <u>Effets de la température</u>	64
2.5. <u>Effets de la teneur en sucre</u>	66
2.6. <u>Effets de la date du sevrage</u>	66
3. Facteurs corrélatifs	66
4. Analyses minérales et des sucres	70
4.1. <u>Analyse du milieu gélosé en fin de prolifération</u>	70
4.2. <u>Analyse des bananiers en fin de prolifération...</u>	70
4.3. <u>Analyse du milieu vierge (gélosé) de croissance</u> <u>au début de l'expérimentation</u>	70
4.4. <u>Groupe d'expériences N°1</u>	70
4.4.1. Analyse des milieux gélosés	70
4.4.2. Analyse minérale des bananiers	71
4.5. <u>Groupe d'expériences N°2</u>	72
4.5.1. Analyse des milieux gélosés	72
4.5.2. Analyse minérale des bananiers	73
4.6. <u>Groupe d'expériences N°3</u>	74
4.6.1. Analyse des milieux gélosés	74
4.6.2. Analyse minérale des bananiers	74
4.7. <u>Teneurs et rapports ioniques des éléments</u> <u>minéraux des vitroplants de bananier</u>	73
<u>CONCLUSION</u>	79
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	80
ANNEXE I. Multiplication végétative <u>in vitro</u> du bananier.	
ANNEXE II. Description des matériaux utilisés pour l'acclimatation des vitroplants.	
ANNEXE III. Description des méthodes utilisées pour les analyses minérales.	
ANNEXE IV. Analyses minérales et des sucres des milieux gélosés et des vitroplants de bananiers.	
ANNEXE V. Unités de mesure de la lumière.	
ANNEXE VI. Description tabulaire du genre <u>Musa</u> spp.	

INTRODUCTION

Le développement des biotechnologies devient aujourd'hui un des sujets primordiaux de recherche dans le monde bien que celles-ci soient pratiquées depuis longtemps. Parmi ces nouvelles technologies, on trouve la micropropagation des plants comme un secteur de pointe dans lequel la production industrielle est déjà une réalité.

Bien que les opérations de micropropagation industrielle des plants in vitro ne soient pas toujours rentables par rapport aux exploitations traditionnelles, il y a un nombre d'avantages qui nous permettent de dire qu'elles sont nettement supérieures.

Ainsi on trouve une production accélérée et à grande échelle du clone désiré (deux mille plants par jour dans le cas du bananier) tout en conservant la conformité du matériel végétal. De plus, il existe la possibilité de produire des plants tout au long de l'année grâce aux conditions contrôlées de la culture in vitro.

Les avantages agronomiques (dans le cas du bananier) sont nombreux :

- état sanitaire parfait, plants à l'origine indemnes de parasites et viroses, nematodes ;
- homogénéité exceptionnelle des parcelles ;
- matériel de plantation toujours disponible et facile à transporter ;
- croissance rapide, la longueur du cycle n'est pas modifiée ;
- raccourcissement exceptionnel de la période de récolte (six semaines) ;
- augmentation de la production jusqu'à 15 %.

Des nématodes spécifiques à certaines variétés des bananiers diminuent fortement les récoltes annuelles, raison pour laquelle les agriculteurs réalisent une lutte chimique coûteuse au détriment de leur économie et de l'écologie des sols.

Les traitements nématicides nécessitent des investissements de plus en plus élevés et à l'heure actuelle ceux-ci justifient le coût du bananier produit in vitro (TEISSON, communication personnelle).

En revanche, l'utilisation des jachères, un an avant les vitroplants peut être très efficace dans le contrôle des populations de nématodes, qui n'atteignent pas des niveaux dangereux au bout d'un an de plantation en l'absence d'un traitement nématicide.

L'utilisation des vitroplants de bananier, qui, au contraire des plants propagés par la méthode traditionnelle sont indemnes de tout pathogène, représente un des principaux avantages dans l'installation de nouvelles plantations sur des terrains non contaminés ou dans l'assainissement des parcelles contaminées.

Cependant, la production industrielle des plants se heurte à quelques problèmes concernant leur comportement lors du transfert au plein champ. Ces problèmes sont communs à presque toutes les espèces. On trouve ainsi : des difficultés pendant la phase d'enracinement et une production initiale de biomasse ex vitro très lente. Le succès dans l'acclimatation des vitroplants dépendra principalement des moyens dont l'éleveur dispose pour adapter graduellement celles-ci au "nouveau climat", mais aussi de l'espèce avec laquelle il travaille (herbacée, ligneuse). Il apparaît donc souhaitable de produire in vitro, au plus bas prix des plantes plus performantes lors du transfert : capables de s'adapter rapidement aux conditions extérieures, avec un rythme de croissance supérieur ou égal aux plants produits par les méthodes traditionnelles, ainsi que homogènes et conformes. Des efforts pour améliorer cet aspect de la culture in vitro sont faits à l'I.R.F.A./C.I.R.A.D. dans le cadre des recherches sur les bananiers.

Les recherches sur les bananiers et plantains à l'I.R.F.A./C.I.R.A.D. incluent les axes de recherche suivants (GANRY, 1985) :

- L'amélioration génétique, étroitement connectée aux aspects phytosanitaires ;
- La mise au point de systèmes alternatifs en vue de préserver et d'améliorer la fertilité (complexe sol-racines-parasites) ;
- La maîtrise de la culture en vue d'une orientation des productions ;
- La mise au point des systèmes d'avertissement et d'itinéraires techniques adaptés en vue d'une optimisation économique de la culture ;
- L'amélioration de la qualité des productions et leur valorisation.

Un des volets de l'amélioration génétique est la multiplication conforme in vitro, ce qui déborde le programme d'amélioration stricte, mais qui lui est étroitement associé :

- échange de germplasm ;
- prolifération du matériel amélioré ;
- production du matériel sain ;

C'est dans ce dernier volet que s'inscrivent les recherches réalisées dans le cadre de ce D.E.A.

La qualité des vitroplants est un sujet qui intéresse les entreprises commerciales de production de plants in vitro. Le développement ex vitro de ce matériel semble être fortement dépendant des conditions de croissance durant l'ultime phase in vitro. Ce fait nous a conduit à réaliser quelques études sur le comportement des plants in vitro, qui ouvrent la voie sur un domaine peu approfondi jusqu'à maintenant : la physiologie de la plante in vitro.

A ce propos, plusieurs chercheurs énumèrent déjà quelques anomalies de la plante développée in vitro (SHORT et al., 1985) :

- a) Production limitée de la cire épicutilaire (FUCHIGAMI et al., 1981 ; WARDLE et al., 1983) ;
- b) Physiologie anormale des stomates (BREINERD et FUCHIGAMI, 1982, WARDLE et SHORT, 1983) ;
- c) Anatomie modifiée des feuilles (GROUT et ASTON, 1982).

L'absence de la cire dans la surface des feuilles conduit à une transpiration cuticulaire excessive qui, couplée avec le fonctionnement anormal des stomates, produit une augmentation de la perte d'eau et de la mortalité des plantules lors du transfert.

Jusqu'à l'heure actuelle, le succès de la culture in vitro a fait penser que les conditions standard de production sont les mêmes pour toutes les espèces. Ceci est peut-être vrai tant qu'on reste dans le domaine de l'in vitro. Le problème se pose lors du transfert des vitroplants vers leurs écosystèmes finaux où les conditions de survie souvent différentes et même opposées, produisent un stress au détriment de leur adaptation.

Le but de ce travail est de montrer comment on peut influencer le développement des vitroplants lors du transfert, à travers le contrôle des différents facteurs in vitro. Ces facteurs sont la lumière, la température, les échanges gazeux (CO_2 , humidité) et la teneur en sucre et en charbon actif dans le milieu, pendant la phase de croissance in vitro.

A partir de quelques observations préliminaires, il a été proposé (TEISSON, SCHOCH et JACQUES, communication personnelle) de :

- 1) Trouver l'intensité et la qualité spectrale de la lumière appropriées à une bonne croissance in vitro puis ex vitro.
- 2) Vérifier si la teneur en CO_2 ne devient pas rapidement un facteur limitant dans l'hypothèse qu'un éclaircissement assez élevé s'avèrerait favorable à la croissance et à l'autotrophie de la plante.
- 3) Contrôler la morphogénèse foliaire et la différenciation des stomates.

L'autotrophie du matériel végétal in vitro n'est pas évidente. L'apport du sucre dans le milieu joue un rôle non négligeable dans la croissance de la plante. En effet, celle-ci dépend en grande partie de cette source carbonée et reste dans un état d'hétérotrophie qui rendra difficile la phase d'acclimatation.

Notre but étant de produire des plants autotrophes et mieux adaptés aux conditions externes, il faut tenir compte des exigences de la plante au fur et à mesure qu'elle devient autotrophe : une demande plus grande de CO_2 pendant la période éclairée, des qualités spectrales de lumière plus proches de celles du soleil, une humidité relative dans le flacon qui facilite la transpiration et un équilibre des éléments minéraux dans le milieu de culture à partir duquel s'alimente la plante.

On a choisi le modèle du bananier car c'est une plante à croissance rapide dont la micropropagation est déjà bien maîtrisée et qui nous permet d'avoir rapidement des résultats. C'est par ailleurs, le premier exemple d'une plante vivrière tropicale multipliée industriellement.

On essayera tout au long de ce rapport, de présenter d'abord quelques données bibliographiques, ensuite d'établir les démarches expérimentales suivies et enfin de conclure en exposant les résultats.

I. REVISION BIBLIOGRAPHIQUE

1. Présentation de la plante

La production mondiale de bananes est d'environ 60 millions de tonnes dont 40 millions de type dessert et 20 millions de type "à cuire" comprenant les bananes plantains (GANRY, 1985). Sept millions de tonnes seulement (type dessert du groupe Cavendish) font l'objet d'échanges internationaux.

Ces chiffres placent la banane dans le groupe de tête des productions fruitières pour ce qui est du tonnage total et des échanges internationaux. Ils montrent également que les systèmes de production pour lesquels le plus gros effort de recherche a été déployé jusqu'à ces dernières années ne représentent qu'environ 10 % de la production mondiale.

1.1. Origine et dispersion de la culture du bananier

La banane est une des plus anciennes plantes cultivées par l'homme. La plupart des clones issus de l'évolution naturelle sont cultivés pour l'alimentation (KRIKORIAN et CRONAUER, 1984).

SIMMONDS et SHEPHERD (1956) suggèrent que les bananes comestibles ont évolué dans le vieux monde à travers plusieurs mécanismes à partir de deux espèces sauvages : Musa acuminata COLLA. (Musa cavendishii LAMB. et PAXT.) et Musa balbisiana COLLA.

Musa acuminata dont le génome est représenté par la lettre A, a son centre originaire de diversité dans la région de Malaisie-Indonésie. Ce sont des plants diploïdes où se trouvent les bananes sauvages et les parthénocarpiques. Les formes diploïdes (AA) sont probablement issues de l'établissement de plusieurs degrés de parthénocarpie et de stérilité femelle. Les triploïdes (AAA) sont des variétés comestibles (sans graines). Ceci fut sûrement la conséquence de la fusion d'un gamète mâle haploïde avec un ovocyte contenant du matériel chromosomique doublé ou non réduit. La sélection et la multiplication végétative clonale assurèrent la persistance des clones les plus appréciés. De plus, des mutations somatiques ont pu avoir lieu et les plantes possédant des qualités supérieures ont pu être sélectionnées et perpétuées.

M. balbisiana, dont le génome est représenté par la lettre B est originaire de la région Indienne du sous-continent Malaisien. Cette espèce se présente comme diploïde avec des graines (BB). Lors du contact entre M. acuminata (AA ou AAA) et M. balbisiana, des nouvelles variétés comestibles de constitution

génomique hybride apparaissent. Les formes diploïdes issues de cette hybridation, sont considérées comme étant à l'origine des formes à graines de M. acuminata et M. balbisiana.

La plupart des bananiers à fruits comestibles sont des triploïdes dont l'origine est due soit à l'intervention des tétraploïdes naturels, soit à la non réduction chromosomique dans des cellules reproductrices de diploïdes.

De même que pour les formes comestibles AA ou AAA, les mutations somatiques supérieures ont dû être sélectionnées et maintenues. SIMMONDS et SHEPHERD (1956) (cités par KRIKORIAN et CRONAUER, 1984) signalèrent qu'il est impossible de désigner l'endroit précis d'origine de ces hybrides comestibles mais selon eux l'Inde fut probablement le centre de recombinaison entre M. acuminata et M. balbisiana. En conséquence la région de Malaisie est généralement acceptée comme le centre primaire d'origine où M. acuminata est considérée comme la source la plus importante de diversité. L'Inde est le centre secondaire d'origine où la majorité de la diversité implique les hybrides 'A' X 'B'.

Il existe des centaines de clones cultivés dans le monde entier. Pour être taxonomiquement exacts, les AA et les AAA (et même les AAAA produits artificiellement) doivent être désignés comme M. acuminata COLLA. (Ceux-ci ont été nommés M. cavendishii, M. chinensis, M. nana, M. zebrina.) (KRIKORIAN et CRONAUER, 1984).

Il est intéressant de remarquer que les génomes 'B' confèrent aux clones d'origine hybride, un certain degré de tolérance à la sécheresse et aux maladies. Le phénomène de la faible hydrolyse de l'amidon dans le fruit cru est associé aussi au génome 'B' ou aux hybrides de M. balbisiana qui sont des bananes à cuisson, dites "plantains".

Tous les types de M. acuminata et quelques clones hybrides ont des fruits plutôt doux et par conséquent peuvent être consommés crus. Ce sont les bananes à dessert.

Lors de sa diffusion à partir de l'Asie du Sud-Est, le bananier semble être passé par Madagascar et puis s'être répandu en Afrique. Les routes Arabes vers l'intérieur du continent facilitèrent ce mouvement à travers l'Afrique Centrale et la Côte Ouest. La banane fut transportée par les Portugais depuis la côte de Guinée jusqu'aux îles Canaries et la République Dominicaine en 1516.

Alors qu'il est impossible de dire quelles variétés furent introduites, on sait que parmi elles il y avait des plantains. La "banane canarie" (Grande Naine) originaire de Sud-Vietnam ne fut introduite à l'hémisphère ouest qu'au début du dernier siècle. La variété Petite Naine, (groupe Cavendish) est une des variétés les plus importantes cultivées dans le monde.

1.2. Systématique et botanique

D'après SIMMONDS (1962) les bananes constituent un groupe distinctif de l'ordre des Zingiberales. Celui-ci contient des plantes pérennes tropicales et sous-tropicales dont la taille peut aller de quelques centimètres à quelques mètres. Il y a quelques 80 genres et 1400 espèces dans le monde. Six familles sont définies dans cet ordre : Musaceae, Strelitziaceae, Lowiaceae dans un premier groupe et Zingiberaceae, Marantaceae et Cannaceae dans un deuxième groupe.

La classification donnée par HUTCHINSON (cité par SIMMONDS, 1962) place les bananiers dans :

- la famille des Musacées,
- le genre Musa,
- la section Eumusa, (x = 11 : 13 à 15 espèces) (DARLINGTON et WYLLE, 1955).

Les deux espèces les plus importantes (M. acuminata et M. balbisiana) se trouvent dans la section Eumusa.

Les bananiers à fruits parthénocarpiques disposent d'un seul moyen de propagation : la multiplication végétative par enracinement des ramifications latérales. Le phénomène de parthénocarpie s'ajoute à une stérilité sexuelle plus ou moins prononcée, qui est la conséquence essentielle de la triploïdie.

Chez les bananiers, les mutations peuvent atteindre les caractères de pigmentation des feuilles, des fruits, leurs dimensions, la forme des bananes, la production des cires.

Les variétés du "Groupe Cavendish" (dont Grande Naine, Williams et Petite Naine) sont toutes de triploïdes AAA, avec des plantes plus robustes aux pseudo-troncs plus épais et aux limbes plus longs et larges que les diploïdes AA. Leurs régimes et leurs fruits ayant aussi des dimensions plus importantes, on comprend que la sélection humaine en ait fait les variétés les plus cultivées (CHAMPION, 1967).

D'une manière générale, ces triploïdes présentent sur leurs gaines les maculations typiques acuminata (macules plus ou moins prononcées). Les fleurs sont blanchâtres, à des rares exceptions, et le tépale libre n'est jamais rosé. Le pâlisement basal de la pigmentation de la face interne des bractées soulevées, dans le bourgeon mâle, est également un caractère bien constant.

On trouve deux groupes principaux donnés par CHAMPION (1967) : Gros Michel et Cavendish ou sinensis. Dans ce dernier, se trouvent des formes géantes (clones Lacatan et un mutant géant non nommé), des formes moyennes (clones Maneah, Poyo, Valery, Séredou et Giant Cavendish) et des formes naines (Grande Naine, Dwarf Cavendish ou Petite Naine et Petit nain razier).

Le cultivar Petite Naine est en seconde position pour l'importance des cultures pour l'exportation (CHAMPION, 1967) , derrière le Gros Michel ; bien que les cultivars Poyo, Grande Naine et Williams prennent une importance considérable actuellement.

Le cultivar Petite Naine présente des longueurs des gaines, de pétiole, de limbe, encore plus réduites que celles de la Grande Naine et on se trouve à la limite de la viabilité du fait que les intervalles entre pétioles successifs ne pourraient être plus courts sans anomalies de végétation : c'est d'ailleurs ce qui survient lorsque les conditions écologiques sont adverses.

L'envergure du bouquet foliaire permet des fortes densités d'implantation et les rendements peuvent être aussi élevés que ceux de Grande Naine , mais seulement dans le cas d'une culture intensive . Le régime pend à la hauteur de l'homme et les entrenœuds étant très courts, les fruits restent écartés de l'axe et complètement courbés. La forme générale est tronconique et les régimes doivent être emballés soigneusement. La partie mâle de l'axe floral reste constamment couverte des fleurs mâles et des bractées fanées. En zone équatoriale, le bourgeon arrive presque au niveau du sol.

Par contre, aux îles Canaries, le faux tronc prend une taille bien plus élevée et la partie inférieure du régime peut être à hauteur d'homme.

TURNER et HACKETT (1985) ont donné une forme condensée pour présenter les variétés du bananier (ANNEXE VI). Cette description tabulaire peut être très utile car il y a une accumulation importante d'information qui caractérise assez bien l'espèce acuminata.

2. L'environnement affectant la croissance et la morphogenèse "in vitro"

D'après GEORGE et SHERRINGTON (1984) les facteurs influençant la croissance et la morphogenèse in vitro peuvent être groupés selon quatre critères principaux :

- Le génotype,
- Le substrat,
- L'environnement,
- Le type d'explant utilisé.

Dans le troisième point, l'environnement, se trouvent les conditions physiques dans lesquelles la culture des tissus est placée à savoir : la température, l'humidité, les effets de la lumière, les échanges gazeux, etc.

2.1. Le rôle de la lumière

Le spectre visible de l'énergie radiante inclut les longueurs d'onde de 390 nm (violet) à près de 760 nm (région du rouge). Lorsqu'on travaille avec les plantes, communément, on inclut de l'ultraviolet proche (320 nm) jusqu'à 800 nm à peu près. Les "quanta" de ce spectre ont une faible énergie : entre 36 et 90 Kcal E⁻¹ en fonction de la longueur d'onde. Cette énergie est assez élevée pour altérer les électrons des niveaux énergétiques extérieurs des atomes et molécules, mais non pas pour induire une ionisation. Ces quanta peuvent être absorbés dans une plante, seulement par un très petit nombre de molécules lesquelles sont caractérisées par des systèmes d'électrons π (ex : chlorophylles, caroténoïdes)(MOHR, 1969).

Il est important de définir des unités de mesure appropriées à la sensibilité des récepteurs de la lumière chez les plants (annexe V) puisqu'on a pris erronément des unités adaptées à l'oeil humain.

Les exigences des plantes. La croissance et le développement des plantes sont dépendants de la lumière en ce qui concerne :

- la photosynthèse,
- la photomorphogenèse.

La photomorphogenèse est le développement de la structure ou forme végétale induite par la lumière. Le récepteur agit ici comme un interrupteur qui régule le mouvement du phénomène de la morphogenèse. Il y a cependant quelques systèmes morphogénétiques qui exigent une exposition prolongée à des fortes irradiances (HI = high irradiance) avant qu'ils puissent occurir. Les mécanismes présents dans les réponses aux fortes irradiances ne sont pas encore complètement compris.

La photomorphogenèse est un phénomène mis en marche à travers des pigments présents dans les tissus qui absorbent des radiations de longueur d'onde spécifique.

La photosynthèse effectuée pour la plupart des matériaux végétaux in vitro est relativement faible et les cultures sont souvent dépendantes d'une source externe de saccharose. La lumière est donc un facteur très important plutôt à cause de son effet sur la morphogenèse.

Les réactions photomorphogénétiques des plantes sont subdivisées d'accord à la partie du spectre qui induit la réponse.

La plupart des réponses sont induites par la longueur d'onde soit rouge, soit violette.

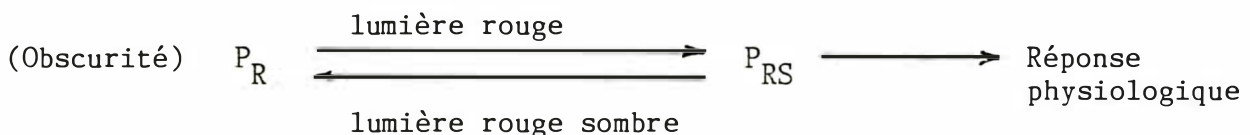
Les systèmes régulés par le rouge (R) ont été largement étudiés dans le matériel végétal et un pigment photochromique appelé le phytochrome a été identifié comme le récepteur responsable.

Les systèmes concernant l'absorption de la lumière bleue sont moins bien compris et des tests pour identifier le pigment responsable n'ont pas encore été mis au point, bien qu'il existe l'évidence qui amène à penser qu'il s'agit d'une flavoprotéine.

Mode d'action du phytochrome. BORTHWICK et HENDRICKS (cités par WAREING et PHILLIPS, 1978), découvrirent que les effets du RC et du RS sont mutuellement réversés. Donc il est clair que là où une région particulière du spectre cause un effet biologique spécifique, les tissus de l'organisme contiennent un photorécepteur (ou "pigment") qui absorbe sélectivement en cette région.

D'après JACQUES (1982), il existe dans la plante, à l'obscurité, un pigment capable d'absorber la lumière rouge (RC) et ce pigment se transforme en une autre forme pigmentaire qui absorbe le proche infrarouge (ou rouge sombre RS) ; cette dernière déclenche la réponse physiologique : c'est la forme active du pigment.

On peut schématiser par :



Les effets du RC (660 nm) et du RS (730 nm) ont été démontrés à travers la réponse d'une grande variété de plantes, depuis les algues vertes jusqu'aux angiospermes. Ces réponses incluent la germination des spores, l'expansion foliaire, l'allongement d'entre-nœuds, l'initiation de la rhizogenèse, le mouvement de chloroplastes, la synthèse des enzymes et les changements de la perméabilité cellulaire. Le RC et le RS ont des effets opposés dans ces phénomènes et ils sont tellement caractéristiques du phytochrome, que lorsqu'ils peuvent être démontrés pour une réponse biologique quelconque, on peut assurer que le phytochrome est en train d'intervenir. Ces aspects de croissance et développement qui sont sous le contrôle du phytochrome, sont connus comme le phénomène de photomorphogenèse (WAREING et PHILLIPS, 1978) dont on a déjà parlé.

On peut dire encore que le RC et le RS ont une influence très forte et antagoniste sur l'allongement cellulaire, la synthèse des chlorophylles, des antocianes et des flavonoïdes, la lignification, la différenciation des stomates (JACQUES, 1982). Les radiations bleues et violettes (400 à 520 nm) ont une influence favorable sur la division cellulaire en général (le cryptochrome étant le photorécepteur ?). L'ultraviolet A (350 à 400 nm) a une influence certaine, peu approfondie sur l'inhibition de la croissance et la stimulation de la biosynthèse des caroténoïdes. On pourrait aussi mentionner l'influence des radiations jaunes sur la biosynthèse des chlorophylles et des radiations vertes sur l'inhibition des mitoses.

Les facteurs physiques, comme la lumière, doivent influencer la cytodifférenciation en affectant soit la disponibilité des hormones, soit leur activité, soit la source de carbone, soit les routes métaboliques associées à ce processus (ROBERTS, 1983). Un exemple de ce dernier point est l'effet de la lumière sur la régulation de l'activité de la phénylalanine ammoniac lyase (PAL). La PAL est une enzyme importante pendant la phase de lignification dans la différenciation des tissus vasculaires.

Il est certain que le phytochrome peut agir par des modifications du métabolisme cellulaire (JACQUES, 1982) et l'on peut rechercher les enzymes dont l'activité et (ou) la synthèse seront modifiées par un traitement lumineux approprié. Dans beaucoup de cas, il sera préférable pour avoir l'effet maximal, de procéder à l'aide d'éclairements RS de longue durée, des éclairements RC de courte durée ayant moins d'efficacité. L'un des exemples les plus étudiés est celui mentionné ci-dessus (PAL).

Cependant, la lumière n'est pas nécessaire pour l'initiation de la différenciation du xylème puisque des nombreuses études portant sur la cytodifférenciation ont utilisé des cultures maintenues en obscurité totale durant toute la phase d'expérimentation. D'autre part, il y a controverse entre chercheurs pour savoir si la lumière blanche (fluorescente) stimule ou inhibe la xylogénèse in vitro (ROBERTS, 1983). L'auteur se demande si la xylogénèse in vitro répond-elle aux longueurs d'onde RS et RC qui servent à réguler les réponses du phytochrome ? Apparemment existe-t-il évidence pour répondre affirmativement. L'évidence la plus forte est celle concernant les effets de la lumière sur les systèmes enzymatiques associés à la lignification. Les activités de ces enzymes sont augmentées lors d'une exposition à la lumière (GRISEBACH et HALHBROCK, 1974).

Dans les phénomènes de photomorphogenèse, la formation des stomates pourrait jouer un rôle important dans l'acclimatation des vitroplants. Cette phase devient ici plus compliqué du fait qu'il faut tenir compte des échanges gazeux.

Il a été montré (SCHOCH, 1972, cité par SCHOCH et ZINSOU, 1975) que la densité stomatique et l'indice stomatique (% des stomates/cellules épidermiques totales) de Capsicum annuum L. varient en fonction du rayonnement global reçu par la plante. L'évidence que la formation des stomates n'est pas déterminée uniquement par le patrimoine génétique de la plante a été confirmée sur Vigna sinensis L. (SCHOCH et SANTOS, 1974, SCHOCH et ZINSOU, cités par SCHOCH et ZINSOU, 1975) et Digitaria smutssi (SCHOCH et SALETTE, 1974, cités par SCHOCH et ZINSOU, 1975). Les résultats de ces auteurs montrent qu'il est possible de modifier la valeur de l'indice stomatique d'une feuille en soumettant la plante à des conditions de rayonnements différents durant la phase de divisions cellulaires épidermiques de cette feuille. L'indice stomatique pourrait donner une bonne indication du climat lumineux qui régnait au moment de la différenciation des feuilles.

La quantité d'énergie lumineuse reçue par une feuille dans laquelle la différenciation stomatique a lieu, ce n'est pas le seul facteur qui détermine le nombre des stomates produits par unité d'aire (SCHOCH, ZINSOU et SIBI, 1980). D'autres facteurs sont la distribution de la lumière pendant l'ontogenèse et la source lumineuse. La différenciation des stomates dans la feuille est un processus spécifique à celle-ci, bien que la perception de la lumière contrôlant la différenciation survienne dans les feuilles dont l'expansion est totale. L'indice stomatique est caractéristique pour chaque feuille et c'est le résultat d'un effet combiné entre le potentiel de la feuille à différencier des stomates et le stimulate provenant de la plante, spécialement des feuilles mûres. La morphogenèse des stomates reste donc sous la commande d'un programme génétique qui peut être affecté par des facteurs tels que l'énergie lumineuse reçue par la plante, spécialement durant la phase critique précédant le dépliement du limbe.

En 1984, SCHOCH et al. ont utilisé différentes bandes monochromatiques pour montrer l'action photopériodique de la lumière (i.e. lumière de courte durée et faible intensité) sur l'indice stomatique, chez une plante verte, Vigna sinensis. Le phytochrome étant le récepteur impliqué dans la différenciation stomatique. Les régimes photopériodiques ont un effet direct sur les feuilles en développement et un effet indirect sur les feuilles adultes.

2.2. L'autotrophie de la plante "in vitro"

Les explants in vitro doivent être mis sur un milieu contenant du sucre, pour assurer leur survie. Les plants ainsi obtenus ne sont pas initialement autotrophiques et doivent subir une période de transition avant d'initier une alimentation indépendante. Il existe en plus, le problème de la forte humidité sous laquelle ils sont cultivés et leur aptitude à une perte d'eau sévère.

De tels plants ne sont pas dépendants de leur photosynthèse. CERBON et VILLEGAS (1983) ont déterminé que durant le passage d'une croissance hétérotrophique à une croissance autotrophique, chez des tissus cellulaires, des changements du métabolisme des lipides ont lieu en vue de placer le mécanisme photosynthétique dans les chloroplastes.

Ce genre d'études permet de réaliser le suivi biochimique du devenir autotrophe des tissus végétaux cultivés in vitro.

La teneur en chlorophylle dans les tissus in vitro est trop faible par rapport aux plants in vivo de la même espèce. Lors de l'exposition à la lumière de ces tissus, le taux de formation de chlorophylle est très inférieur à celui des tissus organisés, préalablement étiolés. Des cals verts ont été obtenus sur des milieux sans source de charbon et avec des concentrations de 1 % à 2 % de CO_2 , ce qui a produit une augmentation du poids sec par une assimilation carbonée photosynthétique (STREET, 1977, cité par GEORGE et SHERRINGTON, 1984).

GRANT et al. (1983) ont mesuré le poids sec des cals sur un milieu avec 2 % de saccharose, cultivés soit à l'obscurité, soit sous $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (16 h). Ils ont trouvé que le poids sec de ces derniers était le double des premiers, ce qui traduit une autotrophie induite par la lumière.

KUMAR et coll. (1983) ont étudié le développement de l'appareil photosynthétique dans des explants (phloème) de carotte. Ils ont déterminé que des explants de racine peuvent développer des chloroplastes avec un fonctionnement correct allant jusqu'à la fixation du CO_2 . Cependant, ils se demandent jusqu'à quel point la photosynthèse s'avère utile au métabolisme primaire des tissus cultivés sous lumière, sur un milieu ajouté de saccharose et amino-acides. Ils supposent que les explants passent d'une nutrition hétérotrophique (les 7 à 10 premiers jours), suivie par une nutrition mixotrophique qui deviendra autotrophe au bout de 3 semaines.

Les auteurs ont mis en évidence la formation d'un appareil photosynthétique chez des cellules qui ne contenaient pas des structures pour ceci. Ils expliquent ce phénomène à travers la conversion des chromoplastes en carotènes et puis en amyloplastes pour ainsi constituer les thylakoïdes et finalement les chloroplastes (KUMAR et coll., 1984). Cependant, et bien que le rapport chlorophylle a/b soit le même que chez une plante adulte, la teneur en chlorophylle est trop faible même en la soit disant, phase autotrophe in vitro. Par ailleurs, ils ont constaté qu'un ajout de kinétine accélère le développement des chloroplastes. Ils ont trouvé aussi des changements dans le métabolisme de la plante au fur et à mesure que celle-ci devient autotrophe.

2.3. Les échanges gazeux

Les gaz trouvés communément pendant une expérience de culture des tissus végétaux sont l'oxygène, le gaz carbonique, l'éthylène et l'ozone.

D'après MARTIN (1980, cité par ROBERTS, 1983) il y a peu d'évidence dans la littérature, que le CO_2 exogène joue un rôle significatif dans la croissance des tissus cultivés en présence d'autres sources de carbone. Il y a cependant la possibilité que le gaz carbonique influence la xylogénèse indirectement via l'éthylène. Le CO_2 a stimulé la biosynthèse de l'éthylène dans des disques de feuilles de tabac (AHARONI et LIEBERMAN, 1979, cités par ROBERTS, 1983), et dans des plantes entières de tournesol (BASSI et SPENCER, 1982, cités par ROBERTS, 1983). D'autres chercheurs ont trouvé que le CO_2 a stimulé la xylogénèse en cultures de tissus de pêche (BRADLEY et DAHEM, 1971).

La biosynthèse de l'éthylène dépend des organes prélevés. Cependant, la lumière ou le CO_2 peuvent induire ou inhiber la production de celui-là (Shang Fa YANG, 1985).

Dans des plantules étiolées de petit pois ou de haricots, la production d'éthylène est inhibée par une courte exposition au RC et cette inhibition est reversée par le RS, fait qui suggère que l'effet est contrôlé via le phytochrome. La lumière inhibe la production d'éthylène dans quelques tissus de feuilles vertes (Xanthium, Zea mays) (GRODZINSKI, BOESE et HORTON, 1982, cités par YANG, 1985), dans la phase de conversion de l'ACC en Ethylène.

En observant que le CO_2 favorise la production de C_2H_4 dans des tissus de feuilles, ces auteurs ont pensé que l'évolution de l'éthylène inhibée par la lumière, peut être le résultat de la chute de la concentration du CO_2 endogène. En effet, lorsqu'une source externe de CO_2 est assurée sous conditions d'éclairage, le taux de production d'éthylène augmente notablement jusqu'à un

niveau proche ou même au-delà de celui observé en obscurité. Alors que le CO_2 ne stimule pas la production de C_2H_4 en obscurité.

Ils conclurent que le facteur régulant l'évolution de l'éthylène est le métabolisme du CO_2 , plutôt que la lumière per se.

Lorsque le CO_2 est apporté en quantité suffisante, la lumière stimule la production d'éthylène en beaucoup de tissus verts. Le rôle de la lumière dans la stimulation de la production d'éthylène reste encore à découvrir.

Les chercheurs se préoccupent de plus en plus du problème du CO_2 in vitro, surtout lorsque celui-ci concerne le fonctionnement autotrophique de la plante.

LAVIGNE et NOLIN (1987) ont mesuré la teneur en CO_2 dans des tubes contenant des bananiers exposés à des fortes intensités lumineuses et avec des bouchages en verre, en cellulose, en coton et en cellofrais. Ils ont constaté que cette teneur est d'autant plus importante que l'intensité lumineuse est plus forte (ce qui est contradictoire avec une possible photosynthèse). La teneur en CO_2 est proche de celle de l'atmosphère avec des bouchons en cellulose et en coton et très faible avec le bouchage en verre (jusqu'à 41 fois plus importante que dans l'air ambiant). Toutefois, les auteurs ne parlent pas du moment de la journée où ils ont pris ces mesures, fait qui pourrait faire varier grandement les résultats (MARCHAL, 1987; communication personnelle).

FOURNIOUX et BESSIS (1985) ont pris soin de réaliser des mesures de CO_2 tout au long de la phase obscure et la phase lumineuse avec deux types de bouchage : en coton et en coton + parafilm. Ceci avec la culture de la vigne, pour laquelle ils ont constaté une augmentation de la teneur en CO_2 pendant la nuit avec un bouchage étanche et une concentration constante avec le bouchage en coton. Pendant la phase lumineuse la teneur en CO_2 tombe (100 ppm) dans les premières 40 minutes (bouchon coton + parafilm) alors qu'avec un bouchage en coton, la concentration se maintient près de celle de l'air extérieur. Ces auteurs préconisent le contrôle de la teneur en CO_2 in vitro comme une des voies de recherche de l'amélioration des conditions de culture.

Dans une étude de la vitrification des cellules comme événement dépendant de la concentration d'agar dans le milieu et des échanges gazeux, LEONHARDT et KANDELER (1985) ont montré que la production d'éthylène soit du milieu per se dans des récipients fermés (jusqu'à 0,1 $\mu\text{l/l}$ d'air en 27 jours), soit à partir du matériel végétal est indépendante de la source de carbone.

Pour prévenir ce dégagement ainsi que pour absorber l'éthylène produit par le cal, il est nécessaire d'ajouter 0,3 % du charbon actif au milieu.

Leurs résultats montrent aussi qu'au long de la période de culture, la concentration de CO_2 dans les flacons était très élevée, parfois 100 fois celle du milieu extérieur.

Les premières observations sur le sevrage de bananiers indiquent déjà l'importance de l'humidité relative mais aussi du type d'enceinte et de l'ombrage utilisé. Toutefois, ces deux derniers facteurs limitent l'entrée de lumière jusqu'à la plante, en diminuant l'incidence des rayonnements de 70.000 lux à autour de 9.000 lux dépendant du type d'enceinte utilisé (PASSAKA, 1985). Le meilleur développement des plantes est obtenu à l'étouffé où les conditions d'humidité ont été satisfaisantes. Cet auteur conclut que dans le système à l'étouffé le déficit de saturation est faible. L'ouverture des stomates est parfaite, les plantes se trouvent dans des conditions de photosynthèse satisfaisantes, d'où cette meilleure croissance.

3. Le rôle des facteurs physiques dans la micropropagation et l'acclimatation des vitroplants

Il existe peu de recherches traitant le sujet de l'acclimatation des plants issus d'in vitro. Bien entendu, celle-ci dépendra du génotype en question et des conditions que la jeune plante a subies.

Il est donc difficile d'établir une méthodologie générale pour obtenir un taux élevé de réussite dans la phase d'acclimatation des vitroplants. Cependant, il est nécessaire de connaître le rôle de chacun des facteurs intervenant dans cette phase, à fin d'aboutir à leur optimisation.

Dans cette section, on présente quelques résultats obtenus par divers auteurs et ensuite on essayera d'approfondir sur le rôle des facteurs intervenants.

Dans les informations existantes au sujet des meilleures conditions in vitro, vis-à-vis de la lumière, il est préconisé généralement un éclairage faible de 10 à 20 W m^{-2} (JACQUES, 1986). Il a été montré que l'intensité de l'éclairage dans le cas de Sequoia (100 W m^{-2}) joue un rôle important pour la rhizogénèse et la reprise de la croissance en serre des jeunes plantes issues d'in vitro. Un éclairage pareil a été rarement ou jamais réalisé en salle de culture in vitro.

L'acclimatation en serre d'un clone de Sequoia sempervirens à enracinement facile est accélérée lorsque les boutures sont exposées à des fortes intensités lumineuses. Dans cette expérience WALKER et coll. (1985) conclurent que l'acclimatation de ce clone peut être affectée par le phytochrome du fait que les éclairagements RC de courte durée pendant la nuit, en phase d'enracinement, accélèrent l'acclimatation, effet reversé par des éclairagements RS.

L'acclimatation d'un clone difficile à enraciner dépend de la durée de la période de croissance du matériel végétal dans l'agar. Les micro-boutures doivent être rapidement transférées au sol une fois que la rhizogenèse est initiée, dans le but d'éviter la formation de gros cals et des racines spongieuses.

D'après MAENE et DEBERGH (1985) l'optimisation du transfert de plants d'in vitro à in vivo dépend de l'élongation de celles-ci vis-à-vis de l'enracinement, les apports des cytokinines influençant cette élongation, de même que la concentration en éléments minéraux du substrat.

Dans leurs études, ils ont déterminé que la couleur de la lumière pendant la phase d'élongation est moins importante que l'intensité, une forte intensité ($100 \mu\text{mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$) améliore la qualité des plantules et par conséquent l'enracinement. Cependant, des expériences pour réguler la croissance de plantules de pomme de terre in vitro en faisant varier la source d'éclairage ont été réalisées par SEABROOK 1985. Cet auteur a utilisé huit sources différentes de lumière et a trouvé que la formation des feuilles composées, des racines adventives et des noeuds, semble être influencée par cette source. En particulier la combinaison des lampes froide blanche fluorescente (cool-white fluorescent) avec des lampes Agrolite fluorescente, a produit des plantes qui présentaient des mesures maximales de la surface foliaire, du nombre de feuilles, de la longueur de la tige, du poids frais et du poids sec. C'est-à-dire que la taille et la forme des plantules de pomme de terre cultivées in vitro peuvent être manipulées en utilisant différents types de lampes.

Les différents types de lampes fournissent des proportions différentes du spectre visible. La figure I.2. caractérise les spectres des lampes fluorescentes et lampes à vapeur de Hg, par rapport à celui du soleil (JACQUES, 1987; communication personnelle).

RODRIGUEZ, MARTIN et RODRIGUEZ (1985) dans un programme de micro-propagation in vitro des bananiers, trouvent que le procédé de formation des bourgeons néoformés est affecté par la photopériode. Une augmentation de celle-ci de 12 à 24 heures par jour, a légèrement améliorée l'émission de

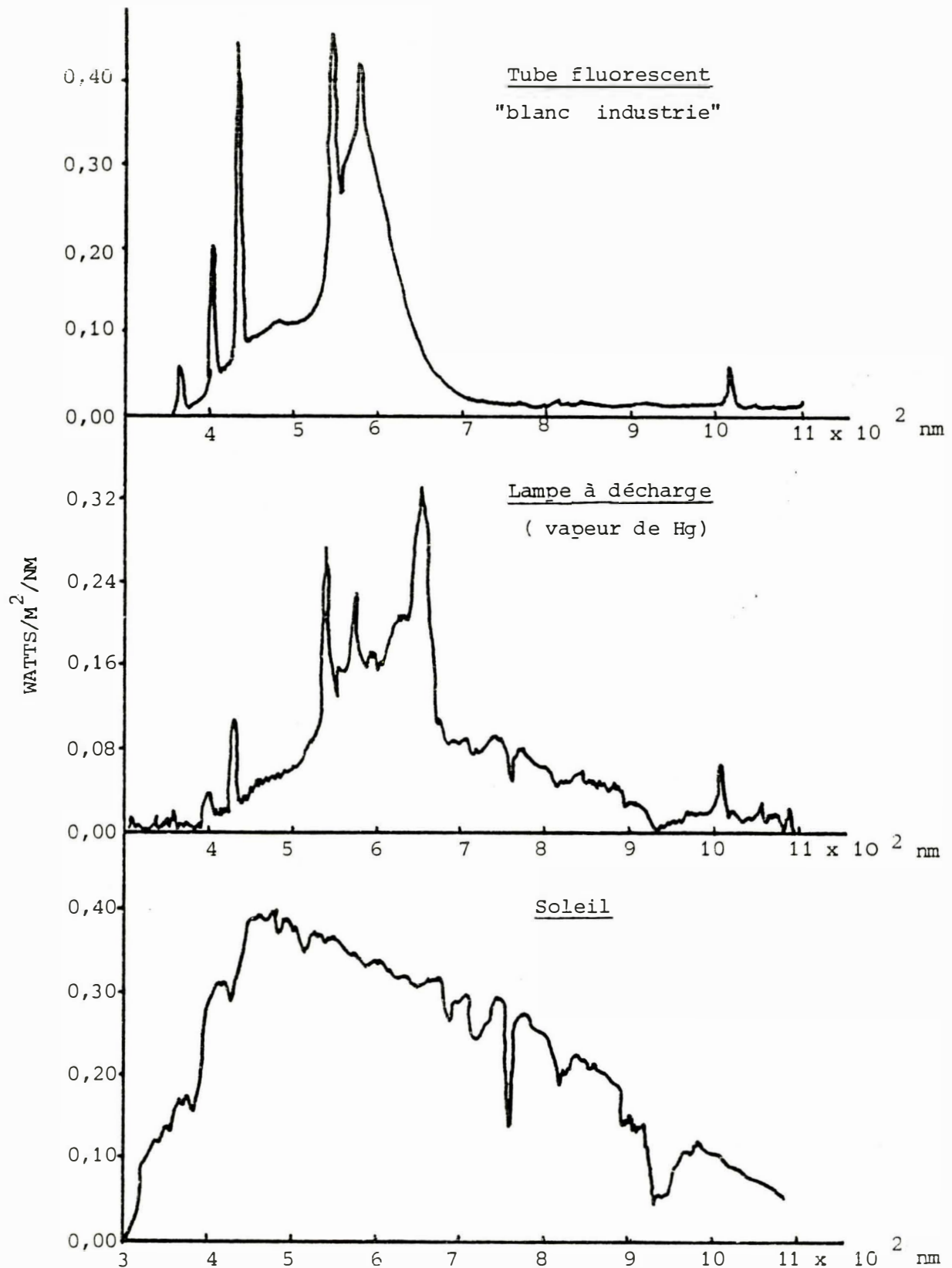


Figure I.2. Spectres d'émission entre 300 et 1100 nm des tubes fluorescents (blanc industrie), des lampes à décharge (vapeur de Hg) et du soleil, (JACQUES, 1987; communication personnelle).

pousses mais aussi a induit une chlorose puis une nécrose foliaire, symptôme rarement trouvé sous conditions standard de photopériode.

Pour le transfert au plein champ, ces auteurs ont d'abord placé les vitroplants âgés de huit semaines sur un milieu soit sans régulateurs, soit avec de l'AIB. Dans ce dernier, les plantes ont émis des grandes feuilles et des nombreuses racines. Après le passage au sol et une brève période dans la serre, les plants ont poussé vigoureusement en plein champ. Le nombre de feuilles, la taille de feuilles, la hauteur de la tige et le rendement des vitroplants furent similaires à ceux des plants propagés par des méthodes traditionnelles.

Le nombre de pousses produites par explant (noeuds de *Vitis*) a été augmenté en utilisant la lumière bleue à 15 W.m^{-2} (CHEE, 1986). L'auteur suppose que le rôle de la lumière bleue est de couper la dominance apicale pour libérer les méristèmes axillaires à travers l'inhibition de l'AIA.

READ et al. (1982) ont trouvé que la lumière à faible intensité ($10 \text{ } \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) s'avère plus favorable à la croissance et à l'enracinement des microboutures d'azalées qu'à forte intensité ($75 \text{ } \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

L'enracinement des microboutures est aussi amélioré lorsque les explants mères sont cultivés pendant deux semaines sous rouge sombre et puis deux semaines sous rouge clair, avant du transfert au milieu d'enracinement (ECONOMOU 1986). Les photopériodes courtes augmentent le nombre de microboutures produites.

L'étude de l'endurcissement des plants in vitro a été réalisée par SHORT et al. (1985) (cas du choux-fleur et du chrysanthème).

Pour ces auteurs, l'acclimatation des plants issus d'in vitro est un facteur limitant la production à grande échelle des plantes ornementales et légumières. Leurs études préliminaires ont montré que les plantules de chrysanthème et de choux-fleur peuvent être endurcies in vitro en cultivant les explants sur de la cellulose ou du bois en milieu liquide. Les plantules de choux-fleur cultivées dans le milieu de MS réduit de moitié et dépourvu de sucre, présentaient une photosynthèse élevée et une cire cuticulaire proche de celle des plantules cultivées conventionnellement.

Un essai d'acclimatation de portegreffes de cerisier montre que les taux de réussite sont inférieurs à 50 % sous ombrage, en serre (MARIN et GELLA, 1985). Le pourcentage d'enracinement est d'autant plus important que la concentration d'agar dans le milieu in vitro est plus élevée. Le taux de réussite durant la phase d'acclimatation (40 jours) est de 16 %, la dessiccation des plantes étant la cause principale. Les causes du faible taux de réussite en acclimatation obéissent-elles à des mécanismes d'adaptation aux nouvelles conditions de croissance et/ou au démarrage de la vie autotrophique ?

La présence de saccharose est importante dans le milieu. ALDRUFEU (1985) a réalisé des expériences d'acclimatation des plantes de pelargonium sur différents substrats additionnés ou non de saccharose. L'addition de celle-ci augmente le nombre de plants enracinés bien qu'aucune différence n'a été observée sur le nombre de feuilles et la surface foliaire.

II. MATERIELS ET METHODES

Six groupes d'expériences ont été réalisés pour évaluer le comportement des vitroplants lors de leur acclimatation. Le tableau II.1 et le schéma II.1 montrent les facteurs étudiés et le calendrier par groupe d'expériences, respectivement.

A l'intérieur de ces groupes d'expériences on trouve deux parties principales :

- a) la phase in vitro où les plants subissent les traitements et
- b) la phase in vivo, de sevrage ou acclimatation où est évalué le développement des plants.

L'origine du matériel végétal, les phases in vitro et in vivo ainsi que les analyses minérales, organiques (sucres) et statistiques seront décrits par la suite.

1. Matériel Végétal

Des vitroplants de bananier variété Petite Naine (M. cavendishii LAMBERT ou M. sinensis, SAGOT ex BAKER) ont été fournis par VITROPIC, entreprise attachée au C.I.R.A.D., où les bananiers sont produits industriellement à un rythme de deux mille par jour.

Dans cette production on trouve trois phases principales qui se déroulent en Boîte de Petri :

- d'abord la phase de démarrage des bourgeons, à partir du méristème d'un rejet de bananier,
- puis la phase de prolifération où les bourgeons issus de la première phase sont multipliés,
- ensuite la phase de croissance ou phase ultime. Après celle-ci, les jeunes bananiers sont prêts à être sevrés. (1)

Le matériel qu'on a employé pour réaliser les expériences a été constitué par des bananiers en fin de prolifération. C'est pendant la phase de croissance qu'ils subissent les traitements. La durée de ceux-ci peut aller de trois à cinq semaines (voir schéma II.1).

(1) Les détails de ce protocole sont expliqués dans l'annexe I.

2. Méthodes

2.1. Techniques "in vitro"

Les cinq bananiers contenus dans une boîte de Petri sont débarrassés de leurs feuilles, puis pesés et ensuite repiqués dans des tubes (30 mm x 200 mm) contenant 30 ml du milieu du Murashigue et Skoog (1962) additionné de 40 g/l de saccharose, de 200 mg/l de KH_2PO_4 et de 5 g/l d'agar-agar. Le pH avant l'autoclavage est ajusté à 5,8 avec du KOH 1 N.

Ces conditions témoins de culture in vitro peuvent être modifiées en fonction des traitements faits qui sont indiqués dans le tableau II.1.

Après avoir vérifié l'absence des contaminations dans nos échantillons, on réalise le classement des bananiers par poids. La répartition du même nombre de bananiers par classe de poids dans les différents traitements permet d'uniformiser ceux-ci pour avoir la même moyenne et le même coefficient de variation.

2.1.1. Facteurs étudiés. Traitements

Dans chaque groupe d'expériences on a fait varier entre un et trois facteurs (voir tableau II.1.). Parmi les facteurs physiques in vitro, ceux liés à l'énergie lumineuse sont considérés en premier.

Dans l'hypothèse où ceux-ci produisent des effets, on a fait varier d'autres paramètres pour trouver leur expression maximale.

Les facteurs étudiés sont donc :

- La quantité de lumière : Intensité ou puissance lumineuse (en Wm^{-2} ou en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et photopériode (12 à 20 heures de lumière par jour).
- La qualité spectrale de la lumière : longueur d'onde (en nm) : rouge clair (660 nm) et rouge sombre (730 nm).
- Le conteneur ou récipient : Boîte de Petri ou tube à essai.
- Le bouchage des tubes à essai : en verre ou en cellulose.
- Le milieu de culture : avec ou sans charbon actif et avec des concentrations différentes de saccharose.
- La thermopériode (température de jour et de nuit).

2.1.2. Localisation des traitements

Les manipulations in vitro ont été réalisées au laboratoire des cultures in vitro du C.I.R.A.D.

Par contre, les traitements ont été subis par les plantes dans des localités différentes.

A Montpellier (C.I.R.A.D.) :

- Chambre de culture conventionnelle. Irradiance de 10 W.m^{-2} . Photopériode 12/12 h. Lampes fluorescentes (1/3 Blanc, 1/3 TLD 83 et 1/3 GroLux). Température de $27 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Enceintes contrôlées. Intensité lumineuse de $340 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (74 W.m^{-2}). Lampes fluorescentes. Photopériode et thermopériode réglables.

Tableau II.1. Traitements in vitro par groupe d'expériences. Sevrage de vitroplants de bananier (I.R.F.A. - Montpellier, I.N.R.A. - Montfavet, 1987).

G.E.	Nombre de traitements (effectifs/trait.)	Facteurs étudiés. Traitements <u>in vitro</u> .												
1	5 (34 à 36)	60-RS : 60 W.m ⁻² , 12 heures.30 min rouge sombre. 60-T : 60 W.m ⁻² , 12 heures. 60-RC : 60 W.m ⁻² , 12 heures.30 min. rouge clair. 10 : 10 W.m ⁻² , 12 heures. S : Serre.												
2	9 (16 à 19)	<table border="1"><tr><th colspan="3">Photopériode = 12 heures</th></tr><tr><td>60 bp</td><td>10 bp</td><td>S bp</td></tr><tr><td>60 t</td><td>10 t</td><td>S t</td></tr><tr><td>60 t+c</td><td>10 t+c</td><td>S t+c</td></tr></table> 60 = 60 W.m ⁻² ; 10 = 10 W.m ⁻² ; S = serre ; bp = boîte de Petri ; t = tubes ; t + c = t + charbon actif	Photopériode = 12 heures			60 bp	10 bp	S bp	60 t	10 t	S t	60 t+c	10 t+c	S t+c
Photopériode = 12 heures														
60 bp	10 bp	S bp												
60 t	10 t	S t												
60 t+c	10 t+c	S t+c												
3	10 (16 à 20)	<table border="1"><tr><td>60 V-12</td><td>60 V-16</td><td>60 V-20</td><td>10-V</td><td>SV</td></tr><tr><td>60 C-12</td><td>60 C-16</td><td>60 C-20</td><td>10-C</td><td>SC</td></tr></table> 60 = 60 W.m ⁻² ; 10 = 10 W.m ⁻² ; S = serre. 12,16 et 20 = heures d'éclairage/jour. V = bouchon en verre ; C = bouchon en cellulose.	60 V-12	60 V-16	60 V-20	10-V	SV	60 C-12	60 C-16	60 C-20	10-C	SC		
60 V-12	60 V-16	60 V-20	10-V	SV										
60 C-12	60 C-16	60 C-20	10-C	SC										

G.E. = Groupe d'expériences.

Tableau II.1. Suite.

G.E.	Nombre de traitements (nb.effectifs/ traitement)	Facteurs étudiés. Traitements <u>in vitro</u> .																
4	6 (15 à 20)	<table border="1"><tr><th colspan="3">12 heures</th></tr><tr><td>60 - 1¹</td><td>10 - 1</td><td>S - 1</td></tr><tr><td>60 - 4</td><td>10 - 4</td><td>S - 4</td></tr></table> <p>60 = 60 W.m⁻² ; 10 = 10 W.m⁻² ; S = serre. 1 = 1 % saccharose dans le milieu. 4 = 4 % " " " .</p>	12 heures			60 - 1 ¹	10 - 1	S - 1	60 - 4	10 - 4	S - 4							
12 heures																		
60 - 1 ¹	10 - 1	S - 1																
60 - 4	10 - 4	S - 4																
5	3 (34)	<p>10 : 10 W.m⁻², 12 heures ; 27 ± 1°C. 70-T : 70 W.m⁻², 12 heures ; 28°C/20°C, jour/nuit. 70 : 70 W.m⁻², 12 heures ; 28 ± 1°C.</p>																
6	10 (26)	<table border="1"><tr><td>10-4</td><td>60-4</td><td>70-4</td><td>S-4</td></tr><tr><td>10-6</td><td>60-20-4</td><td>70-6</td><td>SC-6</td></tr><tr><td></td><td></td><td>70C-4</td><td></td></tr><tr><td></td><td></td><td>70C-6</td><td></td></tr></table> <p>10 = 10 W.m⁻² ; 60 = 60 W.m⁻² ; 70 = 70 W.m⁻² S = Serre. 4 = 4 % saccharose ; 6 = 6 % saccharose. Les bouchons sont en verre, sauf si c'est marqué C (cellulose). Les photopériodes sont de 12 heures sauf pour le traitement 60-20-4 (20 heures).</p>	10-4	60-4	70-4	S-4	10-6	60-20-4	70-6	SC-6			70C-4				70C-6	
10-4	60-4	70-4	S-4															
10-6	60-20-4	70-6	SC-6															
		70C-4																
		70C-6																

G.E. = Groupe d'expériences.

PLANCHE II.1.

Photos 1, 2 et 3 : Phase de croissance in vitro.

Photos 4, 5 et 6 : Phase d'acclimatation ou sevrage.

Photo 1 : Bananiers en boîte de Petri en fin de prolifération.

Photo 2 : Plants en tube sur le milieu de croissance.

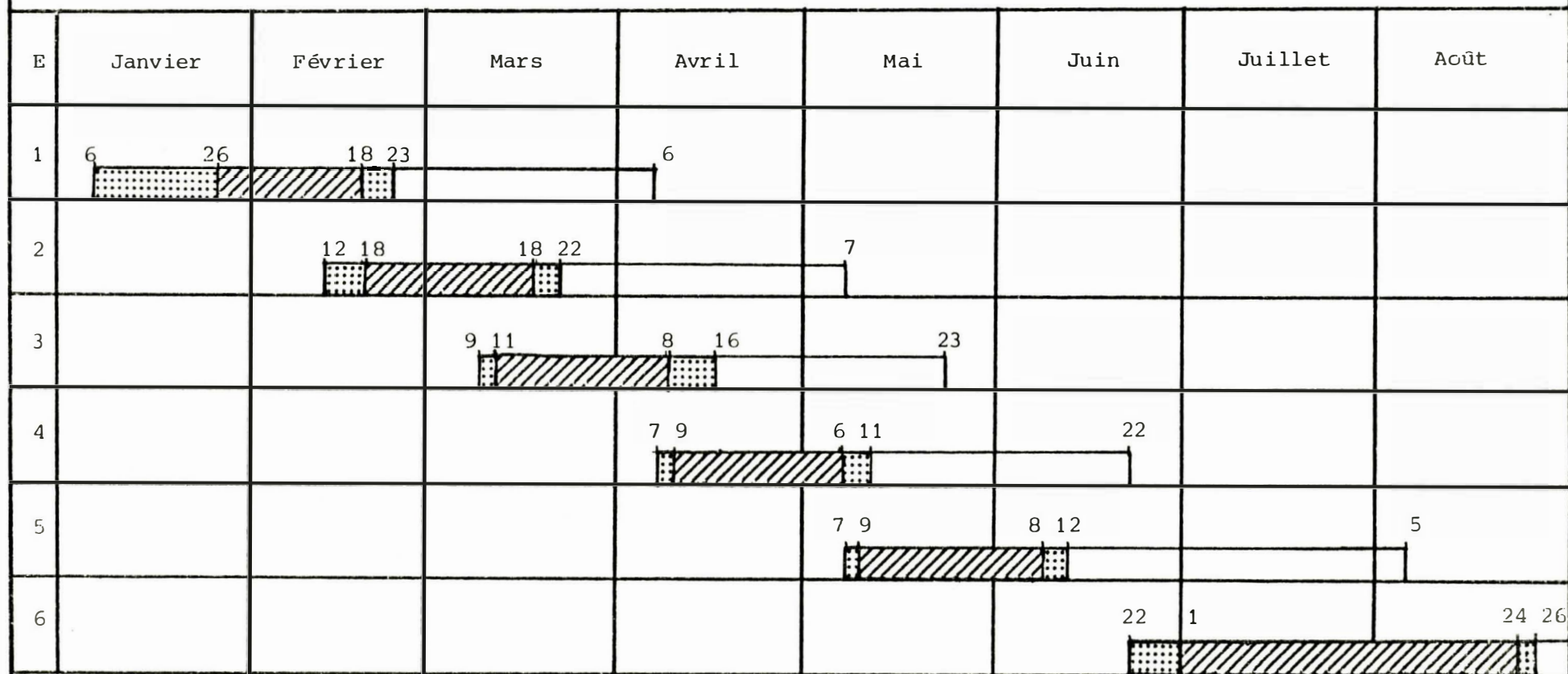
Photo 3 : Plants à la fin de la phase de croissance avec
application des traitements.

Photo 4 : Sevrage des vitroplants sur le jiffy. Age 0.

Photo 5 : Bananiers en phase d'acclimatation. Age 3 semaines.

Photo 6 : Plants en fin de sevrage. Age 6 semaines.

Schéma II.1. Calendrier d'activités par groupe d'expériences. Phases
in vitro et d'acclimatation (I.R.F.A.-Montpellier, I.N.R.A.- Montfavet; 1987).



Phase d'attente in vitro. Homogénéisation.



Phase d'acclimatation.



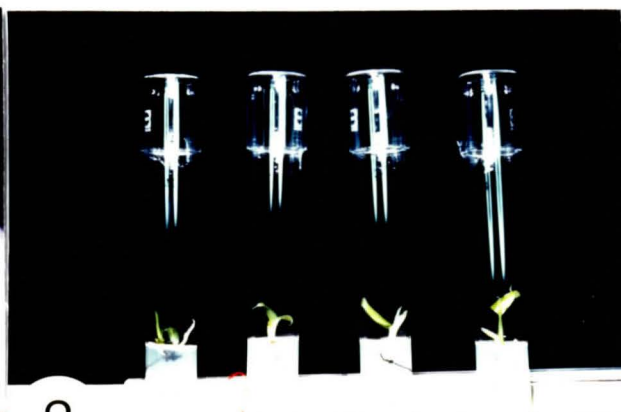
Durée des traitements in vitro.

• E = Groupe d'expériences.

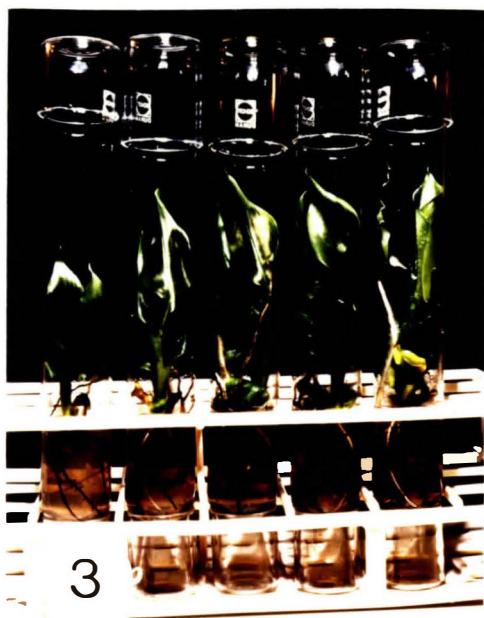
• Les numéros au-dessus des cadres indiquent la date.



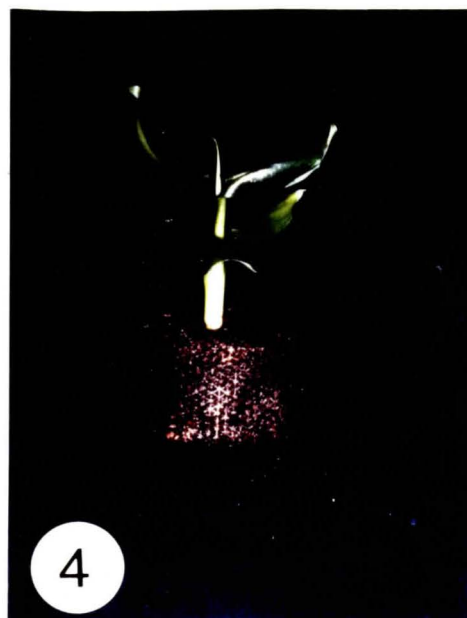
1



2



3



4



5



6

- Serre. Rayonnement solaire. Température de $27 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Les photopériodes ont été croissantes du 26 janvier (9 h 4 min) au 21 juin (16 h 7 min) et décroissantes du 21 juin au 15 août (14 h 38 min), dates dans lesquelles s'inscrivent les expériences.

A Montfavet (Station de Bio-Climatologie, I.N.R.A.) :

- Enceintes contrôlées. Intensité lumineuse de $280 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ environ (60 W.m^{-2}). Lampes à vapeur de mercure. Photopériode et thermopériode réglables. Possibilité de fournir des éclairagements rouge sombre et rouge clair.

2.2. Techniques "in vivo". Description du mode de sevrage

A la sortie d'in vitro les plants sont de nouveau pesés, puis débarassés de leurs racines et enfin repiqués dans des jiffy-7 (mottes comprimées de tourbe à pH 5,5) préalablement mouillées dans une solution nutritive (tableau II.2) additionnée de 3 g/l de Benlate (poudre fongicide à 50 % de Benomyl). Cette même solution est utilisée toutes les deux semaines (5 lt/40 plants) pour fertiliser les jeunes bananiers qui restent six semaines dans des enceintes pour l'acclimatation.

Une expérience a une durée de 10 à 12 semaines.

2.2.1. Conditions physiques du sevrage

Les caractéristiques du substrat (jiffy - 7, mottes de tourbe) sont spécifiées dans l'annexe II.

Les bananiers s'adaptent bien à ce substrat où ils commencent à émettre des racines au bout d'une semaine. Cependant, au bout de trois semaines, un repotage s'avère nécessaire car les racines commencent à dépasser la tablette.

Si, celui-ci n'est pas effectué, la croissance des plants est ralentie et les différences qui pourraient exister parmi les traitements, s'atténuent.

Pour le repotage, on a utilisé le Terreau horticole Neuhaus Huminsubstrat dès la troisième semaine, dans des pots de 0,8 l. (Annexe II).

Les enceintes d'acclimatation.

Ce sont des enceintes de 0,85 m x 1,15 m x 0,85 m de hauteur avec une capacité de 120 bananiers maximum, en fin d'acclimatation.

Il existe un système d'arrosage commun pour 5 enceintes d'acclimatation dont trois sont destinées au sevrage des bananiers. Un brumisateur placé à 72cm au-dessus des plants arrose celles-ci à intervalles régulés (de 2 heures le matin et le soir et de 45 minutes pendant les heures les plus chaudes) durant 1 à 2 minutes. Nombre de brumisations/jour = 8 . Le but étant de maintenir une humidité de près de 100 %.

Cependant, la région Montpelliéraine étant fort ventilée et ensoleillée, ce but n'a pas toujours été atteint. Cela s'est traduit par la perte de quelques plants à chaque groupe d'expériences (jusqu'à 25 % dans quelques cas).

La température de l'air dans les enceintes a aussi été très variable. L'enregistrement de celle-ci indique des températures de $30^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ pendant les journées couvertes et les nuits et de $35^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ pendant les journées ensoleillées.

La température du fond de l'enceinte, rempli d'une couche de sable, a été maintenue à $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ par un système de résistances régulées par un thermostat .

2.2.2. La nutrition des vitroplants en sevrage

Les bananeraies sont établies dans des conditions très diverses quant au sol. Toutefois, le bananier préfère un sol avec une bonne rétention en eau et en matière fine, avec une structure argileuse ou franche-argileuse qui n'empêche pas la croissance racinaire. Il n'aime pas les substrats compacts et mal drainés (SOTO, 1985). Le pH optimal se situant entre 6,0 et 7,5 (MARTIN-PREVEL, 1984 ; CHAMPION, 1967).

Le bananier est une des cultures immobilisant les minéralomasses les plus élevées par hectare de végétation (MARTIN-PREVEL, 1984).

Des analyses végétales ont été réalisées sur des bananiers en croissance et floraison, par différents auteurs (voir tableaux II.3 et II.4) avec des critères de sélection du matériel à analyser, différents d'un endroit à l'autre.

L'intérêt sur la nutrition des bananiers dans les diverses régions a porté davantage sur des plants adultes. Les données présentées par LAHAV et TURNER (1983) (cités par MARTIN PREVEL, 1984) concernent la variété Petite Naine avec laquelle on a travaillé : elles sont présentées dans le tableau II.3.

Le tableau II.4 indique un résumé des niveaux normaux et critiques des bananiers en croissance, (SOTO, 1985).

Une comparaison des rapports ioniques de la solution nutritive employée dans ce travail et des données des tableaux II.3 et II.4, est présentée dans le tableau II.5.

Tableau II.2. Solution nutritive employée pour le sevrage des vitroplants de bananier (I.R.F.A. - C.I.R.A.D., Montpellier, 1987).

Composé	meq/l	Ion (meq/l)					
		NO_3^-	HPO_4^-	SO_4^{2-}	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
KNO_3	6	6			6		
$\text{Ca} (\text{NO}_3)_2$	10	10				10	
MgSO_4	4			4			4
$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	1		1		1		
Total	21	16	1	4	7	10	4
Oligoéléments (mg/l) : $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2) ; $\text{Zn SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1) ; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,25) ; H_3BO_3 (1,5) ; $(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,05) ; Fe EDTA (0,6).							
pH ajusté entre 5,9 et 6,0 avec du KOH 1 N							

La solution nutritive employée (MORARD, 1986, cours du DEA) est une solution standard à 21 meq/l. Celle-ci a été testée sur quelques bananiers en vermiculite et leur développement s'est montré tout-à-fait satisfaisant. Il existe toutefois une différence entre la demande du bananier et l'apport du K^+ . Par ailleurs, on peut considérer que les apports du substrat permettent une alimentation presque suffisante compte tenu de la taille.

Tableau II.3. Niveaux critiques selon LAHAV et TURNER, (1983) (cités par MARTIN-PREVEL, 1984) pour le stade "rejet en phase de croissance" (limbe : bande non subdivisée). Cultivars : "Lacatan", "Poyo", "Grande Naine", "Williams" et surtout "Petite Naine".

Elément (rapporté à la matière sèche)	Limbe III (bande entière)	Nervure III	Pétiole VII
N %	2.6	0.65	0.4
P %	0.2	0.08	0.07
K %	3.0	3.0	2.1
Ca %	0.5	0.5	0.5
Mg %	0.3	0.3	0.3
Na %	0.005	0.005	0.005
Cl %	0.6	0.65	0.7
S %	0.23	-	0.35
Mn ppm	25	80	70
Fe ppm	80	50	30
Zn ppm	18	12	8
B ppm	11	10	8
Cu ppm	9	7	5
Mo ppm	1.5-3.2	-	-

Tableau II.4. Niveaux nutritionnels dans une plante de bananier en croissance foliaire (résumé par SOTO, 1985).

Elément	Niveaux normaux	Niveaux critiques
N (%)	2,60 - 3,50	2,54 - 2,75
P (%)	0,18 - 0,29	0,08
K (%)	2,70 - 4,53	2,50
S (%)	0,30	0,20
Ca (%)	0,71 ³ - 1,00	0,25
Mg (%)	0,18 ³ - 0,36	0,22
Fe (ppm)	70,0	45,0
Mn (ppm)	650,0	25,0
Cu (ppm)	11 - 24	12,0
Bo (ppm)	20,0	-
Zn (ppm)	18 - 43	20,0

Tableau II.5. Comparaison des rapports ioniques entre la solution nutritive employée et les teneurs rencontrées chez les bananiers par LAHAV et TURNER (tableau II.3.) et SOTO (tableau II.4.)

Rapport ionique	Solution nutritive	Teneurs chez les feuilles de bananier			
		Lahav et Turner (1983)			Soto (1985)
		Limbe	Nervure	Petiole	
K/N	1,98	1,15	4,62	0,53	1,04 - 1,29
K/Ca	0,70	6,00	6,00	0,24	3,80 - 4,53
Ca/Mg	2,50	1,67	1,67	1,67	2,78 - 3,94
K/ C ⁺	33,3 %	79 %	79 %	72 %	75 % - 77 %
Ca/ C ⁺	47,6 %	13 %	13 %	17 %	17 % - 20 %
Mg/ C ⁺	19,1 %	8 %	8 %	10 %	5 % - 6 %

$$C^{+} = K^{+} + Ca^{2+} + Mg^{2+}$$

On observe donc que la demande d'ion K⁺ ne peut pas être remplie facilement , les besoins du bananier étant très élevés.

Des recherches pour trouver un substrat et une solution nutritive adéquates aux besoins des bananiers doivent être réalisées en vue d'obtenir une expression homogène des traitements subis in vitro. En revanche, ceci pourrait être utile pour l'acclimatation des vitroplants à grande échelle.

3. Paramètres. Prélèvement des données

3.1. Paramètres mesurés

Les données prélevées pour évaluer le développement des vitroplants ont été les suivantes :

In vitro :

PMFi - Poids initial de la matière fraîche.

PMFf - Poids final de la matière fraîche.

PMSf - Poids final de la matière sèche.

NFiv - Nombre des feuilles émises in vitro.

In vivo :

H1 à H4 - Hauteur de la pseudotige (toutes les semaines ou tous les 15 jours).

NFE1 à NFE4 - Nombre des feuilles émises in vivo.

DIAM - Diamètre final à la base de la pseudotige.

PMF - Poids final de la matière sèche.

PMSf - Poids final de la matière sèche.

SUFO - Surface foliaire.

Le poids initial de la matière fraîche in vitro est le poids de l'explant utilisé au départ, c'est-à-dire, le bananier débarrassé de ses feuilles et de ses racines. C'étaient les seules données non destructives et disponibles pour pouvoir réaliser une homogénéisation des traitements. Cette homogénéisation n'est pas toujours compatible avec l'apparence visuelle des plants.

Le poids final de la matière fraîche est celui des plants développés in vitro, prêts à être sevrés et dépourvus de leurs racines.

La hauteur de la pseudotige est la distance de la base du plant à la fourche formée par les deux feuilles les plus jeunes.

Les feuilles émises in vivo sont très facilement différenciables de celles produites in vitro. Toutefois, elles ont été comptées à l'aide d'une marque sur la dernière feuille émise.

Le diamètre final a été mesuré à la base de la pseudotige : là où commence à se former le bulbe du bananier. Cette mesure est effectuée avec un pied-à-coulisse.

La surface foliaire a été déterminée sur les feuilles pas nécrosées ni brûlées, c'est-à-dire, les quatre à six dernières. La prise de ce paramètre a été grandement facilitée par un appareil "intégrateur des surfaces" qui se trouve à la Station de Bio-Climatologie de l'INRA-Montfavet.

Toutefois, dans quelques expériences, on a mesuré la surface de la dernière feuille en utilisant le calcul l (longueur) \times L (largeur) \times 0,6.

Enfin, le poids sec a été déterminé soit par un séchage rapide de 24 heures à 105°C (à l'INRA), soit par un séchage lent de sept jours à 60°C (à l'IRFA).

3.2. L'analyse statistique des données

En ce qui concerne le groupe d'expériences no. 1 on a placé (dans les enceintes) les plants dans six bacs (dits de transport), à raison de 30 plants (6 x 5). Chaque bac avait un traitement différent, par ligne de six plants ce qui ne permet pas de contrôler les hétérogénéités possibles. Cependant, nous n'avons pas trouvé des gradients d'accroissement dans aucun sens et on a donc réalisé les analyses de la variance.

A partir du second groupe d'expériences, on a réparti les plants aléatoirement dans des blocs, placés en une ou deux enceintes d'acclimatation.

Pour faire les analyses, on a utilisé le logiciel STATITCF (1) du Service des Etudes Statistiques et Informatiques de l'I.T.C.F. qui propose un programme d'analyse de variance avec un nombre inégal de répétitions.

Lorsqu'on trouve des différences significatives entre traitements, le test de Newman et Keuls nous aide à placer ceux-ci dans des groupes de moyennes non significativement différentes soit au risque de 5 % (indiqué par a, b, c, ... dans la section III) , soit au risque de 1 % (indiqué par A, B, C, ...).

Ces analyses ont été réalisées au service de BIOMETRIE de l'I.R.F.A.

4. Les analyses

Des analyses minérales, des sucres et de chlorophylle ont été réalisées par le laboratoire de Physiologie Végétale de l'I.R.F.A. et par les laboratoires d'Analyses Minérales des Plants et d'Analyses Organiques et Bio-chimiques du C.I.R.A.D.

(1)

STATITCF

Ce logiciel a été réalisé en s'inspirant de programmes d'origines différentes :

- le logiciel "MICROSTAT" (version 2.0) réalisé par ECOSOFT, traduit et corrigé par les Statisticiens de l'I.T.C.F.
- les ouvrages de T.FOUCART :
 "Analyse factorielle - Programmation sur micro-ordinateurs"
 "Analyse factorielle de tableaux multiples" MASSON - 1984
- le Service des Etudes Statistiques et Informatiques de l'I.T.C.F.

La détermination des éléments minéraux et des sucres a été effectuée en fonction du matériel végétal disponible. Ils n'ont pas été déterminés dans tous les essais. Des bananiers et le milieu de culture ont été analysés avant et après la phase de croissance in vitro. Du milieu neuf sans bananiers a été exposé aux mêmes conditions que les plants en croissance, pour étudier son évolution.

4.1. Les analyses minérales

La préparation des échantillons pour l'analyse minérale consiste d'abord à séparer les bananiers de la gélose et à éliminer les restes des racines de cette dernière. Ainsi, on a d'une part l'échantillon de matériel végétal et d'autre part, l'échantillon de matériel usagé. En plus, il y aura l'échantillon du milieu conservé sans bananiers (dit vierge) avant et après la période de traitement.

Les échantillons végétaux sont pesés (poids de la matière fraîche) et mis à sécher dans une étuve à 60°C jusqu'à déshydratation totale. Le poids de la matière sèche est mesuré et la teneur de celle-ci peut alors être calculée.

Il est nécessaire d'avoir au moins 1 gramme de matière sèche pour déterminer les teneurs en N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn et Zn.

Avant minéralisation l'échantillon est broyé, homogénéisé, puis stocké dans des piluliers étanches.

Deux méthodes de minéralisation sont utilisées :

1. Minéralisation de KJELDHAL pour le dosage de l'azote (Annexe III).
2. Minéralisation par calcination (dosage des autres éléments) (Annexe III).

4.2. Les analyses des sucres

4.2.1. Préparation des aliquotes du milieu gélosé

La préparation des aliquotes pour l'analyse des sucres dans le milieu gélosé a été mise au point au laboratoire de Physiologie Végétale de l'I.R.F.A. La gélose est homogénéisée au broyeur. Une aliquote de 10 g est prélevée et mélangée avec 90 ml d'alcool éthylique pur et ensuite homogénéisée. au broyeur pendant 3 à 5 minutes. Ce mélange est centrifugé afin d'éliminer

complètement la gélose. Il est important que toute trace de celle-ci disparaisse, car on risque de boucher irréversiblement les colonnes de séparation des sucres par chromatographie.

Après avoir centrifugé à 3000 rpm pendant 5 minutes, l'aliquote est versée dans un pilulier fermé et stocké à 5°C dans un réfrigérateur avant l'analyse.

4.2.2. Préparation des aliquotes du matériel végétal

Un échantillon est constitué de plusieurs bananiers qui sont pesés puis broyés et aussitôt fixés à l'alcool éthylique bouillant, durant 3/4 d'heure (sous réfrigérant vertical) pour stopper toute évolution des constituants des plants. L'alcool est séparé du milieu solide qui sera repris de nouveau durant 3/4 d'heure par de l'alcool éthylique bouillant. Cette opération est répétée quatre fois. Les différents extraits alcooliques sont recueillis et évaporés sous vide à l'évaporateur rotatif, à 37°C. Le résidu de l'évaporation rotative est repris à l'eau distillée et amené à un volume fini (20 ml). Il peut être congelé pour être conservé avant de réaliser les analyses de sucres.

4.2.3. Dosage des sucres

Le dosage des sucres est fait par HPLC (Chromatographie Liquide à Haute Performance) avec un réfractomètre comme détecteur. Les résultats apparaissent sous forme de pics dont la surface représente la concentration en sucres.

Principe de la chromatographie des sucres par HPLC

La solution contenant les sucres est injectée dans un solvant qui est pulsé par une pompe dans une colonne de chromatographie, dont le remplissage est adapté aux conditions de séparation. Les différents sucres sont séparés sur cette colonne. En série avec celle-ci, un détecteur-réfractomètre permet d'obtenir le spectre de chacun des sucres sur un enregistreur. Leur concentration est calculée par un intégrateur de surface par comparaison avec des étalons (MARCHAL, 1987, communication personnelle).

4.3. Les analyses des chlorophylles.

Les teneurs en chlorophylles sont déterminées selon la méthode de BRUINSMA (1963). Cette méthode est la plus rapide pour connaître les teneurs en chlorophylles a et b.

Le jeune bananier est sorti du tube et pesé. Les racines sont éliminées et les plantes coupées en petits morceaux, puis mélangés à 40 ml d'acétone maintenue à une température de 5°C.

Les extractions doivent être réalisées à l'obscurité, au froid et aussi rapidement que possible pour éviter les dégradations.

Le mélange plante-acétone est versé dans un flacon métallique pour être broyé à 60.000 rpm pendant une minute (dans un broyeur homogénéiseur Virtis). Le flacon est placé dans un bain réfrigéré. Ce broyage fait éclater les cellules et permet la dissolution des pigments dans l'acétone.

La solution est filtrée sous vide. Un ou deux rinçages peuvent être effectués jusqu'à ce que le résidu soit blanc. L'ensemble des opérations est réalisé dans un bain d'eau glacée.

L'acétone contenant la chlorophylle est versée dans une fiole à l'abri de la lumière et amené à un volume connu (100 ml). Avant de mesurer la densité optique au spectrophotomètre, on ajoute de l'eau bidistillée pour obtenir un mélange à 80 % d'acétone. Sur le graphique d'évolution de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde (figure II.1) on relève les valeurs des absorbances à 645 nm, à 652 nm et à 663 nm, correspondantes aux valeurs maximales des chlorophylles. Ces valeurs permettent de calculer les concentrations des chlorophylles a, a + b et b, respectivement, en utilisant les transformations suivantes (BRUINSMA, 1963) :

$$Ca = 12,7 A_{663} - 2,7 A_{645}$$

$$Cb = 22,9 A_{645} - 4,7 A_{663}$$

$$Ca + b = 27,8 A_{652}$$

où

C = concentration des chlorophylles en mg/l d'extract,

A = absorbance.

Pour connaître la teneur en chlorophylle par plante, on effectue le calcul suivant (FOLLIOU, 1967, communication personnelle) :

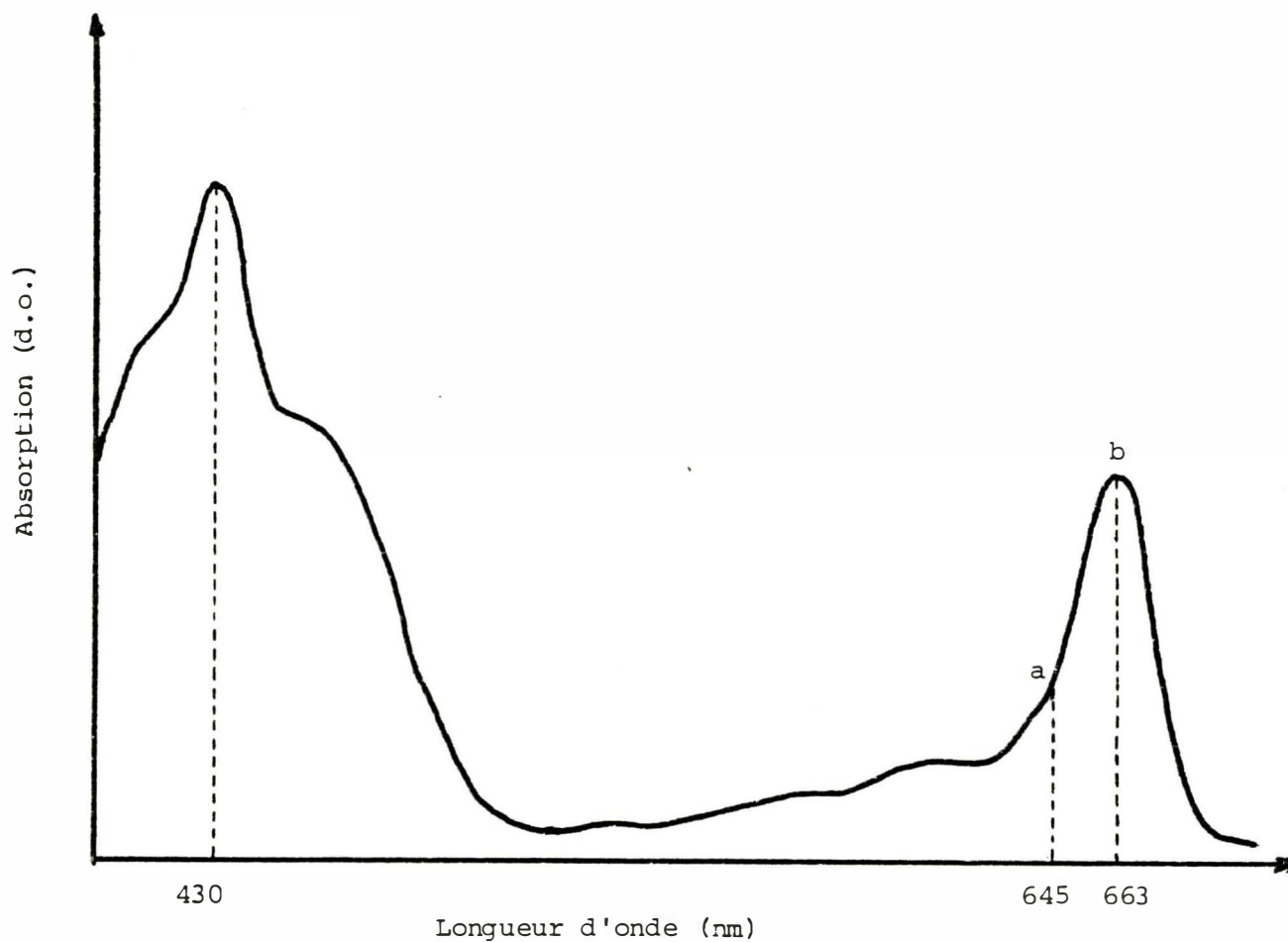


Figure II.1. Spectre d'absorption de l'extrait contenant les chlorophylles d'un plant de bananier sortie d'in vitro (a,b = valeurs d'absorption des chlorophylles a et b respectivement, pris dans le calcul de la teneur de celles-ci), (I.R.F.A. - Montpellier, 1987).

$$T = C \times (100/p) \times 1,25$$

où

T = Teneur en chlorophylle par plante (mg/g);

C = Concentration en chlorophylle dans l'extrait (mg/l) ;

p = Poids de la matière fraîche utilisée ;

1,25 = Facteur de conversion dû à la dilution d'acétone à 80 %.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats seront présentés dans ce chapitre en quatre parties :

- 1) Les résultats par série d'expériences regroupant plusieurs facteurs sous forme de tableaux et graphiques.
- 2) Les effets de chaque facteur étudié.
- 3) Les facteurs corrélatifs.
- 4) Les résultats des analyses minérales.

Lorsqu'on trouve des différences significatives entre traitements, les valeurs des moyennes présentées dans les tableaux sont suivies des lettres a, b, c (pour les différences au risque de 5 %) ou A, B, C (pour les différences au risque de 1 %). Les traitements marqués avec la même lettre, appartiennent au même groupe de moyennes non significativement différentes.

On a trouvé parfois des analyses de la variance hautement significatives et cependant le test de séparation de moyennes a placé celles-ci dans le même groupe de moyennes non significativement différentes.

Ceci arrive lorsque les moyennes sont significativement différentes mais que l'écart-type est trop grand et par conséquent les intervalles de confiance se touchent largement.

Cette situation sera spécifiée quand nécessaire.

1. Résultats par groupe d'expériences

1.1. Groupe d'expériences N°1

Dans cet essai, les effets de la lumière sont étudiés à 3 niveaux d'intensité lumineuse (ou puissance lumineuse) : 10 W m^{-2} ; 60 W m^{-2} (60-T) et rayonnement solaire (S) ; et à 3 spectres lumineux au début de la nuit (30 min) dans le niveau à 60 W m^{-2} : rouge sombre (60-RS), obscurité (60-T) et rouge clair (60-RC).

1.1.1. Résultats "in vitro"

Le tableau III.1. et la figure III.1. montrent le poids initial et final in vitro. Ils montrent également le nombre de feuilles développées dans cette phase.

Les plants exposés au plus faible éclaircissement étaient les plus lourds à la fin des traitements. Le traitement S où les plants ont été mis dans la serre, présentent le poids frais le plus faible et un nombre inférieur de feuilles à la fin de la phase d'in vitro. Ce résultat est la conséquence (brûlures de celles-ci) d'un effet de serre très fort à l'intérieur des microatmosphères où on a enregistré des températures de $30 \pm 10^\circ\text{C}$. Les plants moins exposés aux rayons ont eu un développement plus intéressant et n'ont pas présenté des feuilles brûlées.

Tableau III.1. Poids des plants ($\bar{x} \pm S_{n-1}$) avant et après traitement in vitro. 1er groupe d'expériences (I.R.F.A. Montpellier, I.N.R.A. - Montfavet, 1987).

Traitement	n	Poids frais (g)		Poids (g) racines	Nb. feuil. in vitro	r
		Initial	Final			
60 - RS	35	$0,21 \pm 0,09$	$1,25 \pm 0,49^b$	0,89	$4,77 \pm 0,76^a$	0,27
60 - T	36	$0,21 \pm 0,09$	$1,58 \pm 0,79^a$	1,03	$5,06 \pm 0,85^a$	0,43
60 - RC	35	$0,21 \pm 0,09$	$1,45 \pm 0,45^a$	0,89	$4,89 \pm 0,75^a$	0,38
10	35	$0,22 \pm 0,10$	$1,84 \pm 0,78^a$	1,23	$5,09 \pm 0,69^a$	0,52
S	36	$0,21 \pm 0,10$	$1,08 \pm 0,38^c$	0,97	$3,97 \pm 0,60^b$	0,39

n = nombre d'effectifs

a, b, c = groupes de moyennes non significativement différentes

($\alpha = 0,05$)

r = coefficient de corrélation entre poids frais initial et le poids frais final.

Le coefficient de corrélation entre les poids de départ et final in vitro ne montre pas une relation linéaire entre ces deux paramètres, raison pour laquelle on n'a pas opté pour établir des classes de poids pour l'analyse statistique. Apparemment c'est la qualité du méristème formé en phase de prolifération qui détermine le développement du plant.

1.1.2. Résultats "in vivo"

Les cinq traitements ont eu des moyennes différentes. Le développement des plants est d'autant plus important que les éclaircissements sont plus forts.

Le tableau III.2 ainsi que les figures III.2 et III.3 montrent la hauteur des plants en cours de sevrage. Au début cette hauteur est plus importante pour les traitements 60 - RC (60 W m^{-2} + rouge clair) et 10 (10 W m^{-2}).

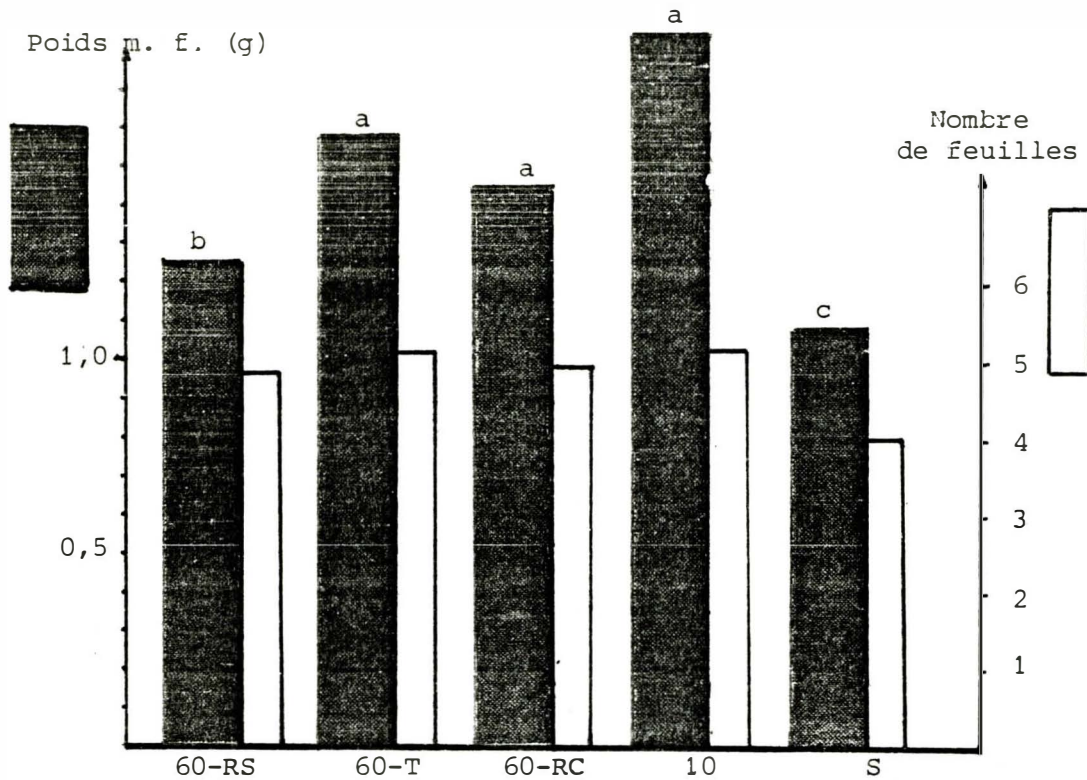


Figure III.1. Poids final et nombre de feuilles émises in vitro. 1er. groupe d'expériences. a,b,c = groupes de moyennes non significativement différentes ($\alpha = 0,05$), (I.R.F.A. - Montpellier, I.N.R.A. - Montfavet; mars 1987).

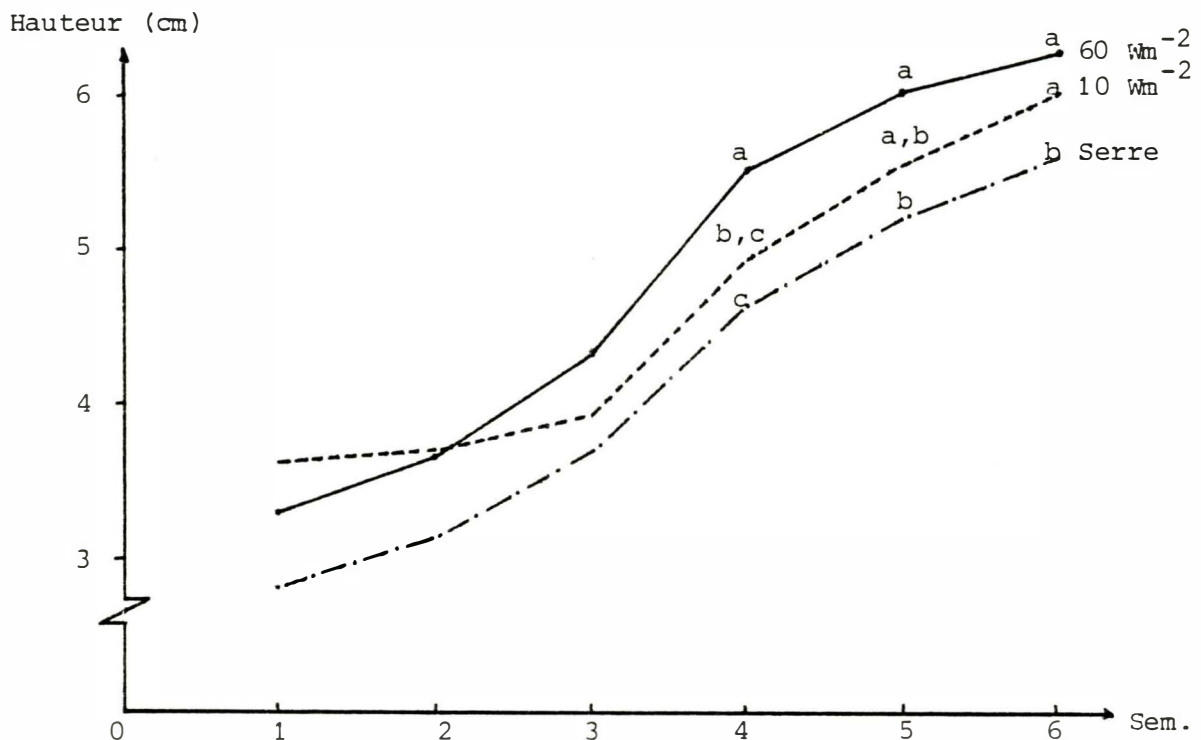


Figure III.2. Evolution des hauteurs des plants en cours d'acclimatation. Effets de l'intensité lumineuse (10 W m^{-2} , 60 W m^{-2} et serre). 1er. groupe d'expériences. a, b, c = groupes de moyennes non significativement différentes ($\alpha = 0,05$), (I.R.F.A. - Montpellier; mars, 1987).

Le traitement 60 - T (60 W m^{-2} + obscurité) est inférieur au traitement 10 au début de la phase d'acclimatation mais son développement a été le plus intéressant se montrant le meilleur adapté au sevrage.

Tableau III.2. Evolution des hauteurs des plants en phase de sevrage.
1er groupe d'expériences (I.R.F.A. Montpellier, 1987).

Traitement	n	Hauteur des plants (cm) ($\bar{x} + S n - 1$)					
		H1	H2	H3	H4	H5	H6
60 - RS	35	$3,42 \pm 0,74^a$	$3,54 \pm 0,81^a$	$4,11 \pm 0,76^b$	$5,21 \pm 0,76^{a,b}$	$5,56 \pm 0,93^{a,b}$	$5,96 \pm 0,76^b$
60 - T	36	$3,30 \pm 0,84^a$	$3,64 \pm 0,92^a$	$4,33 \pm 0,85^a$	$5,52 \pm 0,83^a$	$6,05 \pm 0,88^a$	$6,32 \pm 0,84^a$
60 - RC	35	$3,76 \pm 0,87^a$	$3,94 \pm 0,76^a$	$4,35 \pm 0,91^a$	$5,25 \pm 0,77^a$	$5,75 \pm 0,77^a$	$6,11 \pm 0,86^a$
10	35	$3,62 \pm 0,82^a$	$3,69 \pm 0,73^a$	$3,94 \pm 0,81^{a,b}$	$4,93 \pm 0,81^b$	$5,54 \pm 0,93^b$	$6,04 \pm 0,68^a$
S	36	$2,82 \pm 0,59^b$	$3,13 \pm 0,56^b$	$3,72 \pm 0,68^b$	$4,66 \pm 0,69^c$	$5,19 \pm 0,70^b$	$5,60 \pm 0,70^b$

a, b, c = Groupes de moyennes non significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

L'évolution des traitements à 60 W m^{-2} et à 10 W m^{-2} montre que ce dernier a une phase initiale de croisement ralentie jusqu'à la 3ème date, où la croissance exponentielle du premier est déjà engagée et donc des différences significatives sont obtenues en la 4ème date. (Figure III.2).

Au-delà de cette date, ces différences se sont atténuées du fait que le volume du "jilly" (voir chapitre II, 2.2.1.) n'a plus pu répondre au grand développement des bananiers. D'où la décision de réaliser des repotages pour les expériences suivantes entre la 2ème et la 3ème semaine de sevrage.

On voit aussi que le traitement 60-T (obscurité pendant la nuit) a été supérieur aux traitements 60-RS (rouge sombre pendant la nuit) et 60-RC (rouge clair pendant la nuit) (figure III.3). Cependant, aucune différence significative n'a été trouvée bien que les bananiers développés sous

rouge clair et sous rouge sombre ont présenté des feuilles plus larges et acuminées.

Dans le tableau III.3 on montre les données correspondantes au nombre des feuilles émises in vivo, le diamètre final, la surface foliaire finale et le poids final de la matière sèche.

C'est le traitement 60-T (60 W m^{-2}) qui présente toujours un développement plus important mais, les paramètres finaux étant mesurés à la dernière date, on n'a pas trouvé des différences significatives.

Il est à remarquer (figure III.2) que le traitement S (Serre) a eu un rythme de croissance similaire à celui du traitement 60-T (60 W m^{-2}) et qu'il a presque rattrapé le traitement témoin malgré le handicap dû aux forts écarts de température pendant la phase in vitro.

Ceci suggère que le rayonnement solaire a été de grand profit pour les plants mais que le stress de température subi par ceux-ci a produit des pertes de croissance in vitro. Il s'avère donc nécessaire de mettre au point le contrôle de la température des tubes dans la serre tout en profitant de la richesse de la lumière présente.

Tableau III.3. Nombre de feuilles émises, surface foliaire, poids sec et diamètre en fin de phase de sevrage. 1er groupe d'expériences (I.R.F.A. Montpellier, 1987).

Traitement	Nb.feuilles	Diamètre (mm)	Surf.fol. (cm ²)	Poids de la matière sèche (g)
60 - RS	4,0 [±] 0,41 ^a	8,59 [±] 1,1 ^a	88,0 [±] 27,0 ^a	0,42 [±] 0,10 ^a
60 - T	4,11 [±] 0,57 ^a	8,92 [±] 1,13 ^a	110,2 [±] 43,3 ^a	0,53 [±] 0,28 ^a
60 - RC	3,74 [±] 0,50 ^b	8,66 [±] 1,0 ^a	92,2 [±] 27,0	0,45 [±] 0,13 ^a
10	4,03 [±] 0,38 ^a	8,61 [±] 0,85 ^a	104,5 [±] 28,9	0,42 [±] 0,14 ^a
S	3,72 [±] 0,51 ^b	8,7 [±] 1,1 ^a	86,8 [±] 21,7 ^a	0,46 [±] 0,17 ^a

a, b = Groupes de moyennes non significativement différentes au risque de 5 %.

1.2. Groupe d'expériences N°2

Les facteurs étudiés ici sont 3 :

- 3 niveaux d'intensité lumineuse : 10 W m^{-2} (10) ; 60 W m^{-2} (60) et rayonnement solaire (S).
- 2 types de conteneur : tubes (t) et boîtes de Petri (bp).
- 2 types de milieu en tube : milieu normal (t) et milieu ajouté de 100 mg/l de charbon actif (t + c).

Il y a 9 traitements : trois en boîte de Petri et six en tube (avec ou sans charbon actif).

Les comparaisons doivent être faites très attentivement en prenant les traitements en tube (t) comme les témoins et en les comparant séparément soit avec les traitements en boîte de Petri (effets du conteneur), soit avec ceux ajoutés de charbon actif (t + c) (effets du milieu).

1.2.1. Effets du conteneur

1.2.1.1. In vitro

La figure III.4 montre que le poids des vitroplants après traitements in vitro regroupe les plants traités en tube dans le même ensemble que les plants traités en boîte de Petri à 10 W m^{-2} et dans la serre.

On a constaté, comme pour le 1er groupe d'expériences, que les plants en tube à 10 W m^{-2} (t) ont eu un poids plus important que ceux en tube à 60 W m^{-2} . Par contre, le traitement en serre (St) a été supérieur à celui de 60 W m^{-2} . La seule différence, par rapport au 1er groupe d'expériences, est la protection des plants du rayonnement solaire direct, d'où un effet de serre beaucoup moins sévère que pour la première expérience. Ce fait renforce l'hypothèse qu'un mauvais contrôle de la température est nuisible pour la meilleure expression des effets de la lumière.

Il est intéressant de remarquer que le nombre de feuilles émises in vitro est significativement inférieur en boîte de Petri qu'en tube. En fait, on a constaté que l'espace plus réduit dont disposent les bananiers dans la boîte de Petri oblige ceux-ci à fabriquer leurs feuilles tout en les laissant enroulées et protégées par la 3ème ou 4ème feuille déjà formée. Cette situation s'est avérée favorable pour les bananiers en sevrage car la feuille

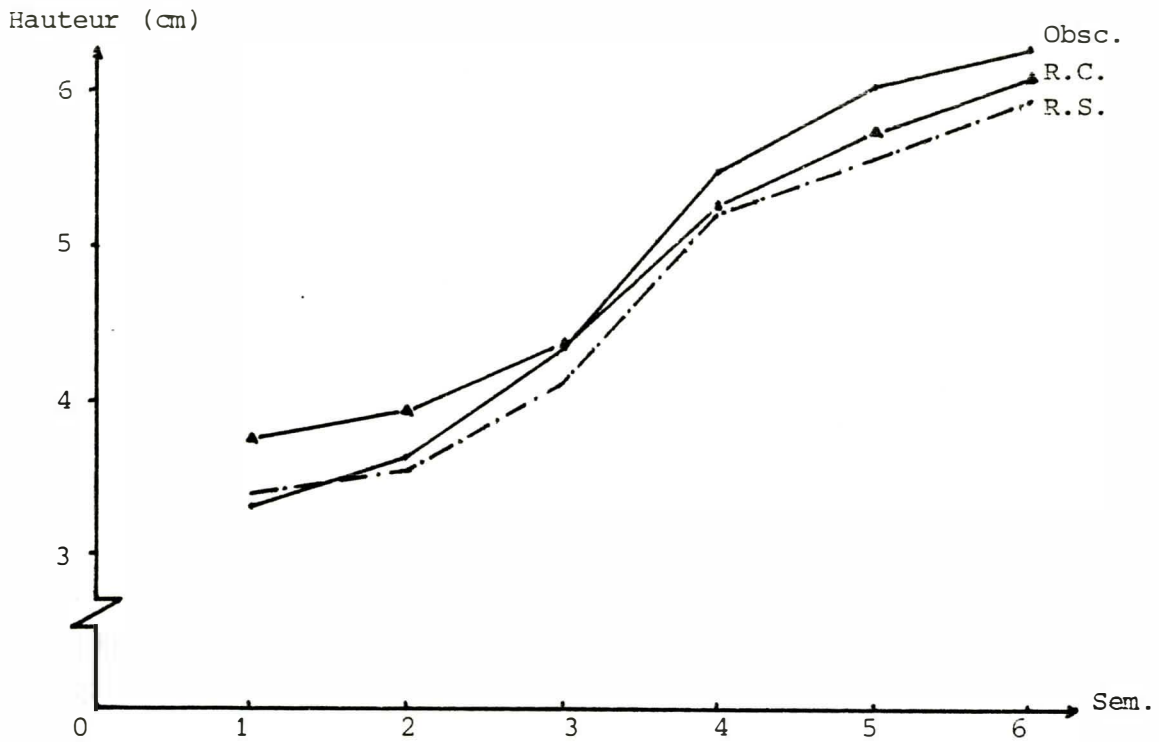


Figure III.3. Effects de la qualité spectrale (rouge clair, rouge sombre et obscurité) au début de la nuit (30 min.). Niveau à 60 W m^{-2} . 1er. groupe d'expériences, (I.R.F.A. - Montpellier, mars 1987).

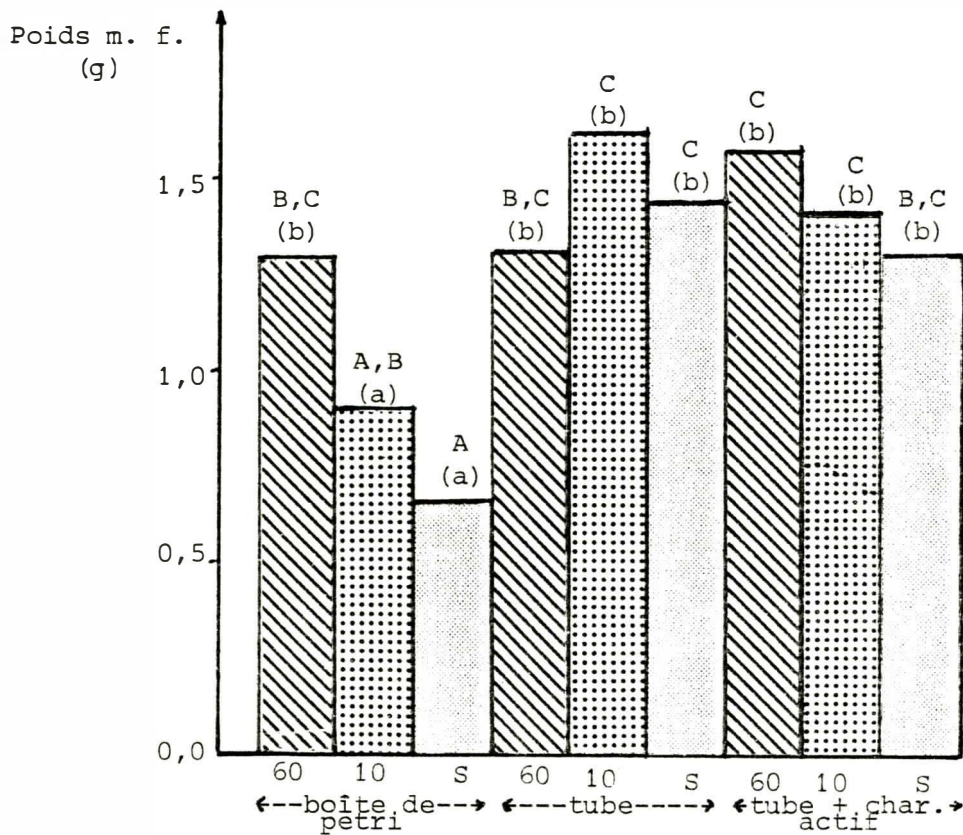


Figure III.4. Poids final *in vitro*. 2ème groupe d'expériences. Groupes de moyennes non significativement différentes: a, b, c ($\alpha = 0,05$) et A, B, C ($\alpha = 0,01$). (I.R.F.A. - Montpellier, I.N.R.A. - Montfavet; mars, 1987.)

protégeant les autres formées in vitro met à l'abri celles-ci vis-à-vis du stress provoqué par les conditions d'acclimatation.

1.2.1.2. In vivo

Cette dernière situation amène les bananiers développés en boîte de Petri à commencer la phase d'acclimatation avec un certain avantage, ce qui donne pour résultat ce que l'on observe sur la figure III.5 (d, e, f) représentant l'évolution des hauteurs et la surface foliaire par traitement.

On voit d'abord qu'il n'y a pas de différences nettes entre le développement des plants issus de boîte de Petri et ceux issus de tube (figure III.5, d et e) sauf pour le traitement en serre (figure III.5, f) : les écarts de température pendant la phase in vitro ont donc été encore défavorables (d'autant plus que le volume de la boîte de Petri est très réduit).

D'autre part, on constate que les plants issus de boîte de Petri à 10 W m^{-2} ont eu un développement plus important que ceux exposés à 60 W m^{-2} et au rayonnement solaire. Est-ce encore un effet d'un mauvais contrôle de la température ?

Par ailleurs, on observe que le traitement à 10 W m^{-2} en tube a été nettement supérieur à celui à 60 W m^{-2} ce qui est complètement opposé aux résultats du 1er groupe d'expériences. Néanmoins, on constate que les plants issus du traitement en serre (figure III.5, b et f) ont eu le meilleur développement en tube cette fois-ci et bien que l'analyse de la variance s'est montrée hautement significative, le test de séparation de moyennes de Newman et Kewls n'a rien montré du fait du grand coefficient de variation des traitements (voir tableau III.4).

Tableau III.4 Nombre de feuilles, hauteur des plants, diamètre, surface foliaire et poids de la matière fraîche en fin de phase d'acclimatation.
2ème groupe d'expériences (I.R.F.A. Montpellier, I.N.R.A. Montfavet, 1987)

n	Trait.	H4 (cm)	NFE4	DIAM (mm)	SUFO (cm ²)	PMSf
18	60 bp	9,15 [±] 1,32 ^a	6,12 [±] 1,18 ^{C(c)}	12,17 [±] 1,37 ^{a,b}	188,88 [±] 60,72 ^a	0,76 [±] 0,21 ^a
17	10 bp	9,62 [±] 1,11 ^a	6,11 [±] 0,57 ^{C(c)}	12,03 [±] 0,70 ^{a,b}	193,89 [±] 46,35 ^a	0,72 [±] 0,17 ^a
19	S bp	8,96 [±] 1,53 ^a	5,94 [±] 0,73 ^{B,C(b,c)}	11,42 [±] 1,99 ^{a,b}	168,88 [±] 64,90 ^a	0,68 [±] 0,23 ^a
19	60 t	8,71 [±] 1,97 ^a	5,21 [±] 0,52 ^{A,B(a)}	11,48 [±] 2,05 ^{a,b}	167,05 [±] 68,55 ^a	0,71 [±] 0,30 ^a
19	10 t	9,70 [±] 1,00 ^a	5,47 [±] 0,75 ^{A,B,C(a,b)}	12,75 [±] 1,13 ^b	202,53 [±] 50,14 ^a	0,86 [±] 0,19 ^a
19	S t	10,08 [±] 1,49 ^a	5,47 [±] 0,60 ^{A,B,C(a,b)}	12,74 [±] 1,29 ^b	208,53 [±] 61,14 ^a	0,86 [±] 0,24 ^a
18	60 t+c	9,91 [±] 1,08 ^a	5,17 [±] 0,50 ^{A,B(a)}	12,40 [±] 1,15 ^{a,b}	203,67 [±] 42,04 ^a	0,89 [±] 0,26 ^a
16	10 t+c	8,57 [±] 1,71 ^a	4,94 [±] 0,66 ^{A(a)}	11,07 [±] 1,79 ^a	145,50 [±] 73,18 ^a	0,67 [±] 0,30 ^a
17	S t+c	9,21 [±] 1,31 ^a	5,35 [±] 0,59 ^{A,B,C(a,b)}	11,66 [±] 1,17 ^{a,b}	153,35 [±] 48,07 ^a	0,69 [±] 0,20 ^a

n = Nombre d'effectifs. a, b, c = Groupes de moyennes non significativement différentes à 5 % et à 1 % (A,B,...).

L'effet de la lumière solaire s'avère donc très favorable, d'autant plus qu'on contrôle mieux les températures dans les tubes en évitant l'incidence directe du rayonnement. Le manque de cohérence de ces résultats avec le traitement à 60 W m⁻² (figure III.5, b) nous amène à penser qu'il y a pu avoir un mal fonctionnement thermique dans les enceintes où on a fourni cette énergie.

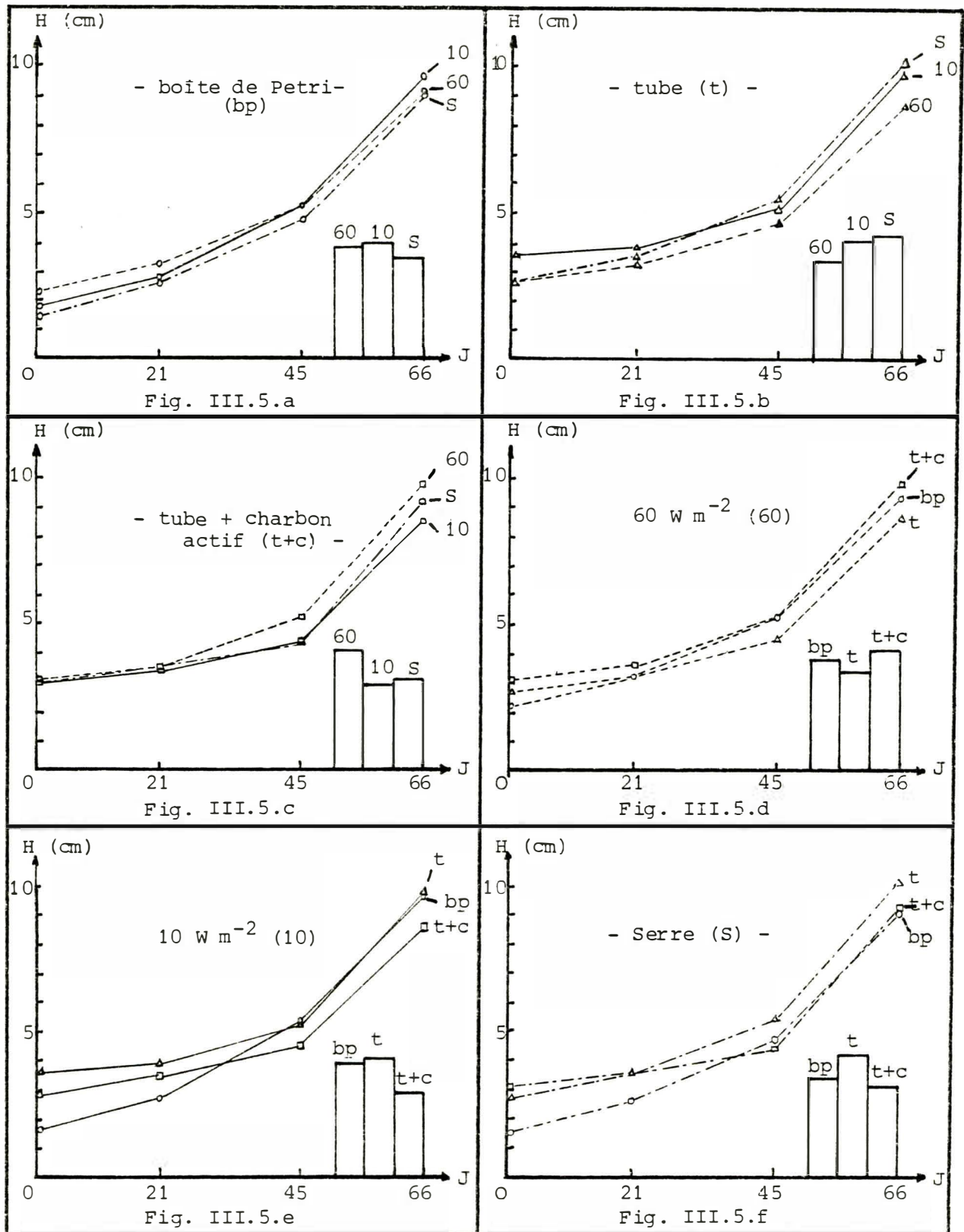


Figure III.5. Evolution des hauteurs des plants en cours de sevrage et surface foliaire finale (entre 145 et 208 cm²). Les neuf traitements sont comparés par niveau d'intensité lumineuse (10 W m⁻², 60 W m⁻² et serre), par type de conteneur (boîte de Petri ou tube) et par l'addition ou l'absence de charbon actif dans le milieu *in vitro*. 2ème groupe d'expériences, (I.R. - F.A. - Montpellier, mai 1987).

Cette hypothèse est renforcée par l'allure des courbes qui montrent une croissance des traitements à 10 W m^{-2} et sous rayonnement solaire, similaire à celle du 1er groupe d'expériences ; fait qui n'a pas été confirmé pour le traitement à 60 W.m^{-2} (figure III.5, b).

1.2.2. Effets du charbon actif

Aucune différence significative n'a été trouvée parmi les traitements, sauf pour le traitement à 60 W.m^{-2} (tableau III.5 et figure III.5, c,d,e,f). Il faut tenir compte que les poids de départ ont été légèrement variables entre traitements.

Toutefois, les régressions linéaires entre les poids initial et final in vitro montrent des coefficients de corrélation de 0,27 à 0,52 selon les traitements (groupe d'expériences N°1, tableau III.1). La remarque antérieure nous fait penser que la qualité de l'explant de départ est extrêmement importante dans l'évolution des expériences.

De plus, dans le cas où les fortes intensités aient des effets positifs sur l'acclimatation des plants, celles-ci doivent trouver leur expression maximale dans la mesure où les facteurs tels que la température soient parfaitement bien contrôlés.

Il est nécessaire de prendre en compte les différents facteurs qui sont variés à la fois dans un traitement, pour pouvoir comparer ceux-ci adéquatement. Par exemple, si l'on veut comparer l'effet de la lumière en salle climatisée ou sous serre, il faut absolument tenir présent que les variations thermiques sont complètement différentes.

1.3. Groupe d'expériences N°3

Les facteurs étudiés sont les suivants :

- 3 niveaux d'intensité lumineuse : 10 W.m^{-2} (10), 60 W.m^{-2} (60) et rayonnement solaire (S).
- 3 photopériodes au niveau de 60 W m^{-2} : 12 heures (12), 16 heures (16) et 20 heures (20).
- 2 types de bouchons pour l'ensemble des traitements : bouchon en verre (V) et bouchon en cellulose (C).

Il y a donc six traitements pour le niveau de 60 W.m^{-2} (3 photopériodes x 2 types de bouchage) et deux pour chacun des niveaux 10 W.m^{-2} et rayonnement solaire ; ce qui fait un total de 10 traitements.

1.3.1. Résultats "in vitro"

Dans cette série d'expériences, on a deux témoins. Le premier est celui où on conserve les conditions standard de culture : 10 W.m^{-2} , 12 heures et bouchon en verre (10 V). Le second est le témoin qui nous sert à comparer uniquement les traitements où le bouchage est en cellulose : 10 W.m^{-2} , 12 heures, bouchon en cellulose (10 C).

Avant de comparer les traitements, on doit considérer deux faits. Premièrement, le problème du mauvais contrôle de la température à 60 W.m^{-2} et sous serre, persiste. Deuxièmement, l'utilisation des bouchons en cellulose permet des échanges gazeux importants, ce qui se traduit par un équilibre avec l'extérieur, de la teneur en CO_2 dans le tube mais aussi par une perte importante d'humidité. Ce phénomène a deux conséquences possibles : d'une part, la chute de l'humidité relative dans le tube, ce qui serait favorable à la plante si l'on parle d'endurcissement in vitro, et d'autre part, un déséquilibre des concentrations et des rapports ioniques dans le milieu de croissance, différent à celui qui existe en conditions témoins.

On a constaté dans les enceintes du C.I.R.A.D. à Montpellier, dans des tubes sans plants, que cette perte d'humidité est d'environ 4 ml d'eau en un mois (groupe d'expériences n°6).

Le tableau III.5 montre les poids initiaux et finaux de la matière fraîche pendant la phase in vitro. Les résultats des analyses de chlorophylle et la hauteur à la sortie d'in vitro en début d'acclimatation.

Le poids final de la matière fraîche est nettement supérieur pour trois traitements : 60 W.m^{-2} (16 h), 60 W.m^{-2} (20 h) et Serre (bouchon en verre, tous les trois). Ce fait est très important car les fortes intensités favorisent l'augmentation du poids du vitroplant. Par ailleurs, les poids des traitements 10 C, 10 V (témoins) et SC (serre) sont les plus bas.

Si on compare maintenant les traitements par "couple ayant reçu la même quantité de lumière" on observe que le poids final et la hauteur des plants sont supérieurs pour les traitements avec des bouchons en verre.

Tableau III.5 Poids initial et final des plants in vitro. Teneur en chlorophylle d'un échantillon de 5 plants dans quelques traitements (I.R.F.A. Montpellier ; I.N.R.A. Montfavet, 1987).

Traitement	n.	PFIi (g)	PFI _f (g)	Hl (cm)	Chlorophylle (mg/g) (5 effectifs)
60 V - 12	20	0,23 [±] 0,11 ^a	1,63 [±] 0,35 ^{b,c}	3,42	548 ± 121 ^a
60 C - 12	18	0,20 [±] 0,08 ^a	1,33 [±] 0,48 ^{b,c}	3,18	
60 V - 16	19	0,21 [±] 0,09 ^a	2,07 [±] 0,78 ^a	3,58	
60 C - 16	16	0,22 [±] 0,06 ^a	1,49 [±] 0,51 ^{b,c}	2,91	
60 V - 20	19	0,25 [±] 0,10 ^a	2,25 [±] 0,71 ^a	3,69	569 ± 117 ^a
60 C - 20	19	0,21 [±] 0,07 ^a	1,38 [±] 0,49 ^{b,c}	2,8	
10 C	19	0,20 [±] 0,08 ^a	1,23 [±] 0,42 ^c	2,91	
10 V	19	0,21 [±] 0,09 ^a	1,50 [±] 0,51 ^{b,c}	3,23	502 ± 34 ^a
SV	17	0,23 [±] 0,08 ^a	1,84 [±] 0,58 ^{a,b}	3,39	529 ± 52 ^a
SC	19	0,23 [±] 0,13 ^a	1,31 [±] 0,18 ^{b,c}	2,8	630 ± 80 ^a

n = Nombre d'effectifs

a, b, c = Groupes de moyennes non significativement différentes ($\alpha = 0,05$)

Ceci pourrait s'expliquer par un contenu d'eau plus important **avec** des bouchages étanches et par une illumination plus directe à travers les bouchons en verre.

La teneur en chlorophylle (déterminée sur 5 plants par traitement analysé) est d'autant plus importante que la quantité de lumière fournie est supérieure (60 V-20 60 V-12 SV 10 V). Ceci se confirme aussi lorsqu'on utilise le bouchon en cellulose pour les traitements en serre (SC SV). On pourrait peut-être conclure que l'appareil photosynthétique est développé davantage chez des plants exposés à des plus fortes intensités lumineuses in vitro, ce qui ne peut que favoriser l'autotrophie de ceux-ci.

1.3.2. Résultats "in vivo"

Les tableaux III.6 et III.7 montrent les résultats en fin d'acclimatation.

Dans la figure 6 on présente la surface de la dernière feuille (1 x L x 0,6), ce paramètre montre de la même manière que la hauteur des plants, les différences existants entre les traitements. On a constaté que la mesure de la hauteur caractérise assez bien le développement des bananiers. Pour le confirmer, on a réalisé des corrélations qui sont montrés dans la partie 3 de ce chapitre.

L'analyse de la variance ici réalisée, met en évidence un effet de traitement hautement significatif pour les paramètres montrés dans les tableaux III.6 et III.7. Cependant le test de séparation de moyennes a conclu qu'il avait un seul groupe (sauf pour le diamètre final) de moyennes non significativement différentes, fait qui est compréhensible en sachant que les coefficients de variation sont assez élevés (entre 21 % et 43 %).

Tableau III.6 Nombre de feuilles émises in vivo. Hauteur, diamètre et poids de la matière fraîche en phase d'acclimatation. Groupe d'expériences 3. (I.R.F.A. Montpellier, I.N.R.A. Montfavet, 1987).

Traitement	n	H-3 (cm)	NFE3	DIAM (mm)	PMFf (g)
60 V - 12	20	10,51 [±] 1,98 ^a	4,15 [±] 0,85 ^a	11,25 [±] 2,18 ^{a,b}	11,61 [±] 4,62 ^a
60 C - 12	18	10,98 [±] 1,67 ^a	4,00 [±] 0,47 ^a	11,76 [±] 1,09 ^{a,b}	14,03 [±] 5,35 ^a
60 V - 16	19	10,83 [±] 2,09 ^a	4,00 [±] 0,56 ^a	11,57 [±] 2,58 ^{a,b}	14,53 [±] 6,70 ^a
60 C - 16	16	12,23 [±] 1,86 ^a	4,50 [±] 0,50 ^a	12,28 [±] 1,60 ^{a,b}	17,82 [±] 5,55 ^a
60 V - 20	19	11,26 [±] 2,46 ^a	4,11 [±] 0,64 ^a	12,44 [±] 2,34 ^{a,b}	15,88 [±] 7,62 ^a
60 C - 20	19	12,11 [±] 1,28 ^a	4,58 [±] 0,49 ^a	12,44 [±] 1,50 ^{a,b}	16,81 [±] 5,00 ^a
10 C	19	10,10 [±] 2,38 ^a	4,16 [±] 0,49 ^a	10,34 [±] 2,67 ^b	11,76 [±] 7,19 ^a
10 V	19	10,37 [±] 1,87 ^a	4,16 [±] 0,36 ^a	10,91 [±] 1,79 ^{a,b}	11,88 [±] 5,12 ^a
SV	17	11,36 [±] 1,66 ^a	4,00 [±] 0,49 ^a	12,75 [±] 2,03 ^{a,b}	17,17 [±] 6,16 ^a
SC	19	11,84 [±] 1,39 ^a	4,26 [±] 0,55 ^a	12,36 [±] 1,52 ^{a,b}	16,94 [±] 4,90 ^a

n = Nombre d'effectifs

a, b, c = Groupes de moyennes non significativement différentes ($\alpha = 0,05$)

Tableau III.7 Poids de la matière sèche finale. Teneur en matière sèche et surface de la dernière feuille en fin de phase d'acclimatation. 3ème groupe d'expériences (I.R.F.A. Montpellier, 1987).

Traitement	PMSf (g)	Teneur (%)m.s.	SURF (dernière f.) (cm ²)
60 V - 12	0,63 \pm 0,25	5,4	65,21 \pm 24,43
60 C - 12	0,69 \pm 0,28	4,9	73,66 \pm 23,49
60 V - 16	0,71 \pm 0,35	4,9	74,26 \pm 28,27
60 C - 16	0,91 \pm 0,31	5,1	94,29 \pm 26,67
60 V - 20	0,84 \pm 0,43	5,3	77,38 \pm 32,90
60 C - 20	0,85 \pm 0,26	5,1	90,19 \pm 18,68
10 C	0,64 \pm 0,40	5,4	67,51 \pm 30,42
10 V	0,61 \pm 0,26	5,1	65,24 \pm 25,15
SV	0,92 \pm 0,28	5,4	82,56 \pm 23,39
SC	0,88 \pm 0,29	5,2	87,04 \pm 25,08

Les observations de cette série d'expériences montrent globalement que les résultats sont meilleurs avec :

- des intensités lumineuses plus fortes,
- des photopériodes plus longues et
- des bouchons en cellulose.

Les bouchons en cellulose permettent en plus d'un meilleur échange gazeux, d'éviter des effets de serre dans les tubes.

Les traitements en serre ont été visiblement supérieurs aux témoins et aux expériences antérieures. Le rayonnement direct a été évité.

Dans la partie droite de la figure III.6, il est évident que le meilleur traitement a été celui à 60 W.m^{-2} , 16 h et bouchon en cellulose (60-16 C). Une perte d'humidité plus importante et donc un stress supporté par la plante, dans les traitements 60 C - 20 et SC pourrait expliquer ce phénomène.

1.4. Groupe d'expériences N°4

Tout en conservant les trois niveaux d'intensité lumineuse jusqu'ici employés (10 W.m^{-2} , 60 W.m^{-2} et rayonnement solaire, on a varié cette fois-ci le contenu de saccharose dans le milieu : 1 % et 4 % , ce qui fait 6 traitements.

1.4.1. Résultats "in vitro"

Dans cette série d'expériences, on a voulu mettre en évidence le rôle du sucre dans le milieu, d'autant plus qu'on pense induire l'autotrophie des vitroplants avec des fortes intensités lumineuses.

Le témoin est constitué par les trois traitements pour lesquels le contenu en sucre reste à 4 %. Malheureusement, ceux-ci montrent des résultats assez contradictoires par rapport à ce qu'on avait observé auparavant.

Les traitements S-40 (serre) et 10-40 (10 W.m^{-2}) ont été significativement supérieurs à celui à 60 W.m^{-2} (60 - 40) (tableau III.8).

Les traitements avec 4 % de saccharose ont dépassé par plus de 50 % le poids (m.f.) des traitements à 1 % de saccharose. Ceci est logique. Toutefois, dans l'hypothèse qu'avec des fortes intensités lumineuses on peut induire l'autotrophie chez les vitroplants, on aurait dû avoir une supériorité

des traitements à 60 W.m^{-2} et en serre (60-10 et S-10). Il faut tenir compte que le vieillissement des lampes des enceintes à Avignon (voir partie II. 2.1.2.) a produit un affaiblissement de la quantité de lumière reçue par les plants au cours du temps.

1.4.2. Résultats "in vivo"

Les résultats lors de l'acclimatation reflètent assez bien ce qui se passe in vitro. Les traitements avec 4 % de saccharose ont eu un accroissement beaucoup plus marqué que ceux à 1 % (tableau III.9).

Des différences significatives entre les différents niveaux d'éclairement n'existent pas.

On peut quand même remarquer que le sucre dans le milieu peut jouer deux rôles : l'alimentation carbonée servant à fabriquer l'appareil photosynthétique et la pression osmotique optimale pour une bonne alimentation minérale.

1.5. Groupe d'expériences N°5

On trouve ici trois traitements :

- Traitement témoin à 10 W.m^{-2} à température constante.
- Traitement à 70 W.m^{-2} à température constante.
- " " avec une thermopériode 20°C nuit/ 28°C jour
(nouvelles enceintes au C.I.R.A.D. Montpellier).

1.5.1. Résultats "in vitro"

Un excellent contrôle de la température ainsi que des échantillons plus nombreux et homogènes ont permis d'obtenir des résultats très marquants.

La figure III.7 montre les poids (matière fraîche et matière sèche) finaux obtenus en phase in vitro. Les plants à 70 W.m^{-2} ont atteint un poids du double des plants à 10 W.m^{-2} et à 70 W.m^{-2} avec thermopériode.

Ceci met en évidence deux faits :

- premièrement, l'effet positif des fortes intensités lumineuses, et
- deuxièmement, l'effet négatif des forts écarts de température in vitro, qui arrive à masquer entièrement les effets des fortes quantités de lumière.

Tableau III.8 Poids initial, poids final et nombre de feuilles émises in vitro.
Groupe d'expériences N°4 (I.R.F.A. Montpellier, I.N.R.A. Montfavet, avril 1987)

Traitement	PFIi (g)	PFI _f * (g)	NFEIV	n
1 10-10	0,16 [±] 0,05 ^a	0,77 [±] 0,19 ^c	5,35 [±] 0,48 ^{a,b}	17
2 60-10	0,16 [±] 0,06 ^a	0,58 [±] 0,10 ^c	4,87 [±] 0,88 ^{a,b,c}	15
3 S - 10	0,15 [±] 0,06 ^a	0,71 [±] 0,16 ^c	5,31 [±] 0,68 ^{a,b}	16
4 10 - 40	0,16 [±] 0,06 ^a	1,33 [±] 0,48 ^a	4,65 [±] 0,79 ^c	20
5 60 - 40	0,15 [±] 0,07 ^a	1,07 [±] 0,26 ^b	4,75 [±] 0,62 ^{b,c}	20
6 S - 40	0,15 [±] 0,06 ^a	1,48 [±] 0,35 ^a	5,47 [±] 0,60 ^a	19

n = nombre d'effectifs par traitement.

a,b,c, = groupes de moyennes non significativement différentes ($\alpha = 0,05$)

Tableau III.9. Hauteur initiale, hauteur, diamètre et surface foliaire finaux des plants en phase d'acclimatation. Groupe d'expériences N°4 (I.R.F.A Montpellier, avril 1987).

n	Traitement	H1 *	H4	DIAM	SURF (der.feuille)
17	1	2,78 [±] 0,58 ^B	6,24 [±] 2,36 ^b	9,02 [±] 2,61 ^c	35,81 [±] 22,6
15	2	1,99 [±] 0,31 ^C	5,73 [±] 2,14 ^b	7,97 [±] 2,29 ^c	29,03 [±] 18,99
16	3	2,22 [±] 0,39 ^C	6,52 [±] 2,93 ^b	8,71 [±] 3,32 ^c	39,54 [±] 27,32
20	4	3,28 [±] 0,66 ^A	9,97 [±] 1,60 ^a	14,03 [±] 2,15 ^a	81,78 [±] 27,08
20	5	2,88 [±] 0,64 ^{A,B}	8,06 [±] 2,53 ^{a,b}	11,01 [±] 3,24 ^{b,c}	57,45 [±] 33,23
19	6	2,86 [±] 0,46 ^{A,B}	9,37 [±] 2,61 ^a	12,52 [±] 3,24 ^{a,b}	74,21 [±] 38,77

n = nombre d'effectifs par traitement.

Groupes de moyennes non significativement différentes à 5 % : a,b,c, et à 1 % : A,B,C.

* ANDEVA avec transformation de variable adoptée : racine carrée

$$\text{Variable} = \sqrt{\text{(variable)}}$$

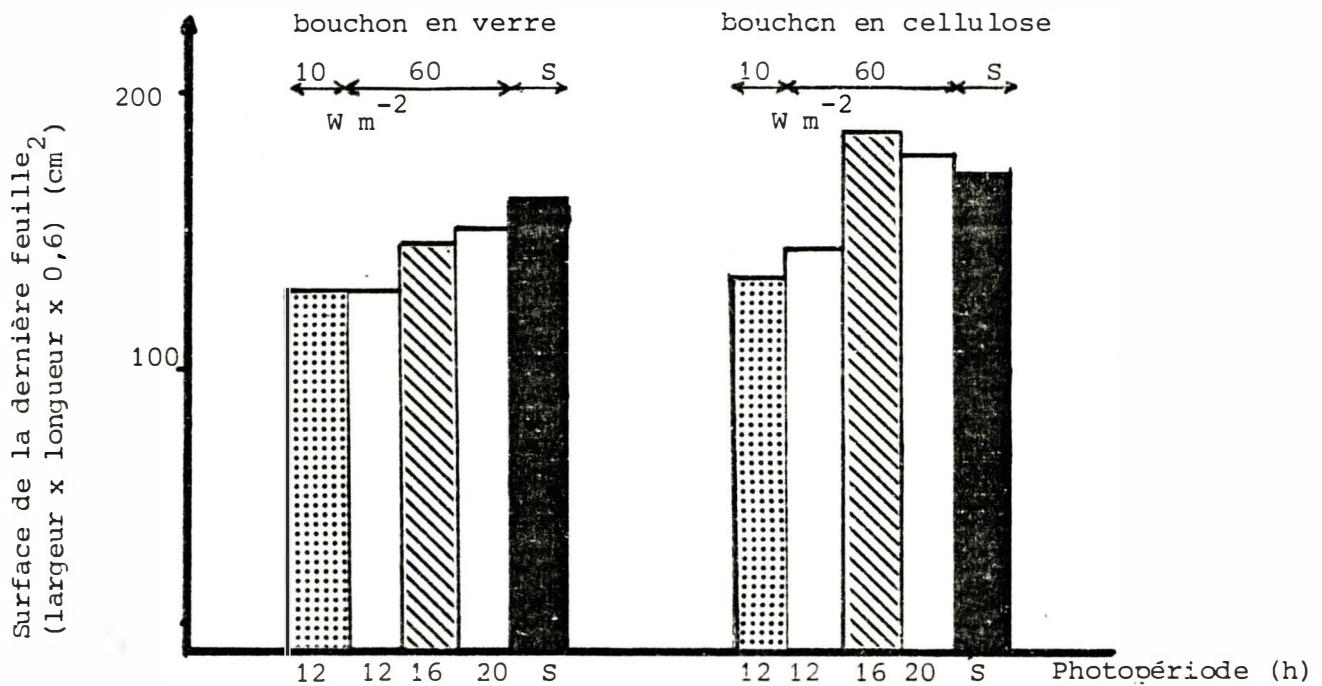


Figure III.6. Effets de l'intensité lumineuse (10 W m⁻², 60 W m⁻² et -- serre) et de la photopériode (12 h, 16 h et 20 h au niveau 60) sur la surface de la dernière feuille en fin d'acclimatation. Deux types de -- bouchage. 3ème groupe d'expériences, (I.R.F.A. - Montpellier, mai 1987).

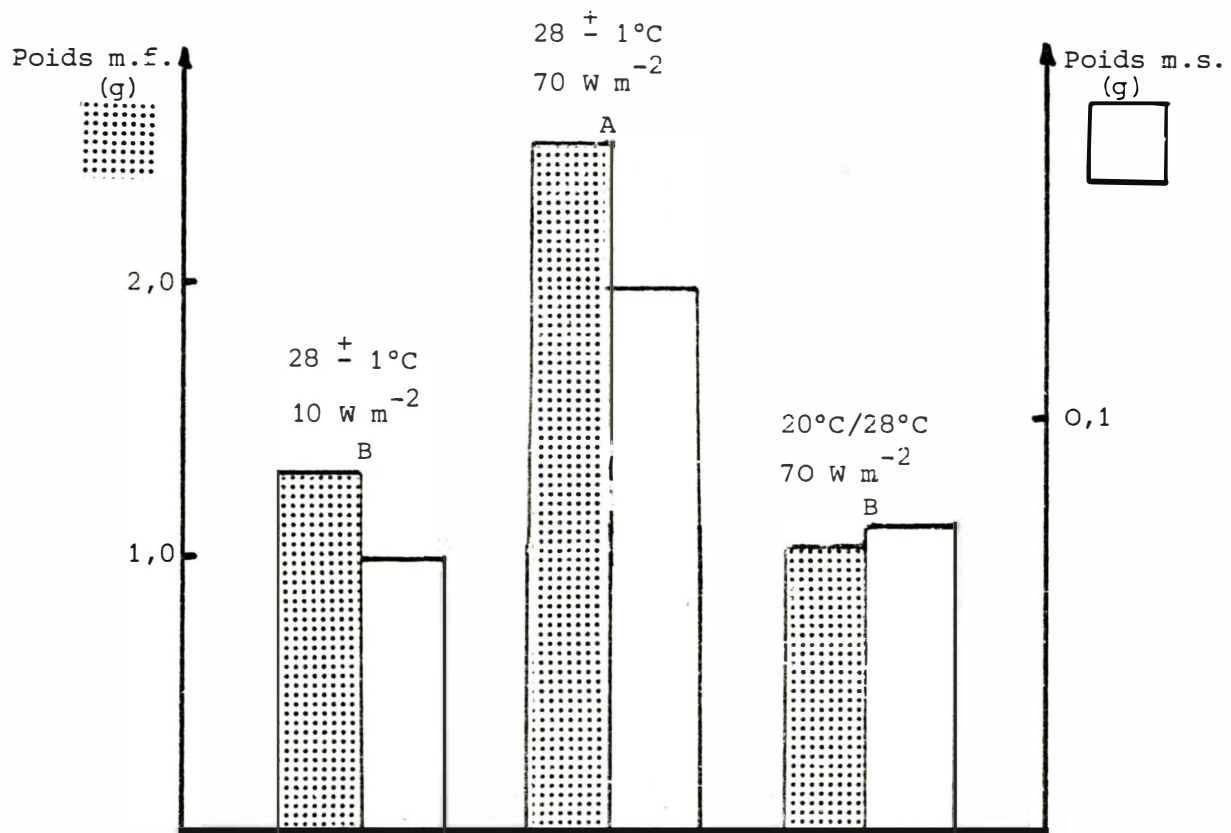


Figure III.7. Incidence de l'intensité lumineuse (10 W m⁻² et 70 W m⁻²) et de la thermopériode (testée au niveau 70) sur le poids final in vitro. -- 5ème groupe d'expériences. A, B = groupes de moyennes non significativement différentes ($\alpha = 0,01$); (I.R.F.A. - Montpellier, juin 1987).

Concernant la teneur en matière sèche par plante, on a trouvé qu'à température constante (à 10 W.m^{-2} et à 70 W.m^{-2}) celle-ci est de 6,4 %. Alors que pour les plants exposés à une thermopériode, cette teneur est de 8,7 % (différences significatives au risque de 1 %). Est-ce un effet d'une transpiration plus importante ou d'une moindre absorption en eau ? En tout cas, les différences visuelles entre plants sont aussi évidentes.

1.5.2. Résultats "in vivo"

On observe sur la figure III.8 que les différences trouvées in vitro persistent en phase d'acclimatation. L'évolution des hauteurs des plants montre une adaptation plus rapide et une croissance plus importante (+ 24 % par rapport au témoin) chez les plants exposés à 70 W.m^{-2} .

Les résultats issus de la mesure des paramètres finaux (diamètre, nombre de feuilles, surface foliaire et poids frais final) sont conformes avec les résultats des figures III.7 et III.8.

1.6. Groupe d'expériences N°6

Dans cette série d'expériences, on a essayé de répéter les traitements qui ont donné les meilleurs résultats.

Quatre niveaux d'éclairement, deux teneurs en saccharose, et deux types de bouchage sont testés, comme indiqué ci-après :

- 10 W.m^{-2} : - 4 % saccharose, bouchon en verre.
- 6 % saccharose, bouchon en verre.
- 60 W.m^{-2} : - 4 % saccharose, bouchon en verre, 12 h.
- 4 % saccharose, bouchon en verre, 20 h.
- 70 W.m^{-2} : - 4 % saccharose, bouchon en verre.
- 4 % saccharose, bouchon en cellulose.
- 6 % saccharose, bouchon en verre.
- 6 % saccharose, bouchon en cellulose.
- Serre : - 4 % saccharose, bouchon en verre.
- 6 % saccharose, bouchon en cellulose.

Ces dix traitements ont été suivis jusqu'à la fin de la période in vitro.

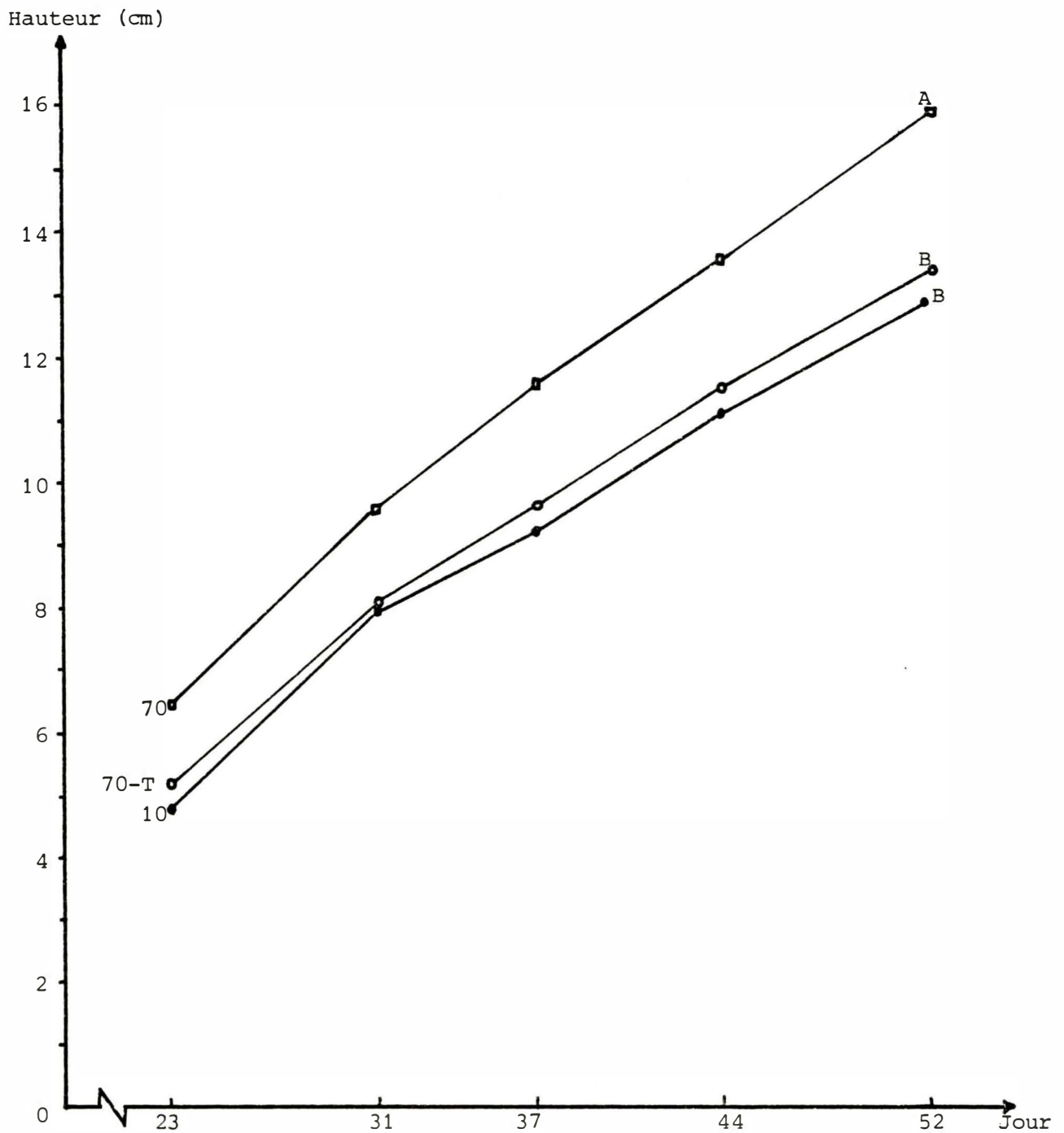


Figure III.8. Evolution des hauteurs des plants en cours d'acclimatation. Influence de l'intensité lumineuse (10 W m^{-2} et 70 W m^{-2}) et d'une thermopériode au niveau 70 (70 - T). 5ème groupe d'expériences. A,B = groupes de moyennes non significativement différentes ($\alpha = 0,01$), (I.R.F.A. - Montpellier, août, 1987).

La figure III.9 montre les poids de la matière fraîche obtenue.

Ceux-ci sont les plus élevés parmi les six séries d'expériences. Ceci est dû à une prolongation de la durée des traitements (sept semaines).

Par rapport aux expériences antérieures, les faits suivants sont constatés :

- le poids de plants est d'autant plus élevé que la quantité de lumière (intensité ou photopériode) est plus importante (sauf pour le traitement en serre),
- le poids est moins élevé lorsqu'on utilise le bouchage en cellulose.

Il est remarquable qu'avec une photopériode de 20 h à 60 W.m^{-2} on a obtenu le même poids qu'avec 12 h à 70 W.m^{-2} .

Bien que les plants se développent nettement mieux avec un supplément en saccharose à 10 W.m^{-2} , ceci n'est pas du tout le cas lorsque les éclairages sont plus importants. Apparemment la forte consommation minérale et hydrique à des forts éclairages en combinaison avec les doses élevées en sucre, produisent rapidement une concentration excessive qui s'avère négative à la croissance de la plante.

2. Effets des facteurs étudiés

Bien que contradictoires, les observations montrent des tendances plus ou moins définies concernant les facteurs étudiés.

2.1. Effets de l'intensité lumineuse

Les expériences réalisées montrent qu'en général le poids final de la plante in vitro est faible par rapport au témoin dans le cas où l'énergie fournie est au niveau 60 (sauf pour l'expérience 6). Ce résultat doit être pris avec une extrême précaution car, nous l'avons dit, l'énergie mesurée est descendue tout au long de l'année de 60 à 30 W.m^{-2} . D'autre part, la température n'a pas toujours été bien contrôlée dans ces enceintes.

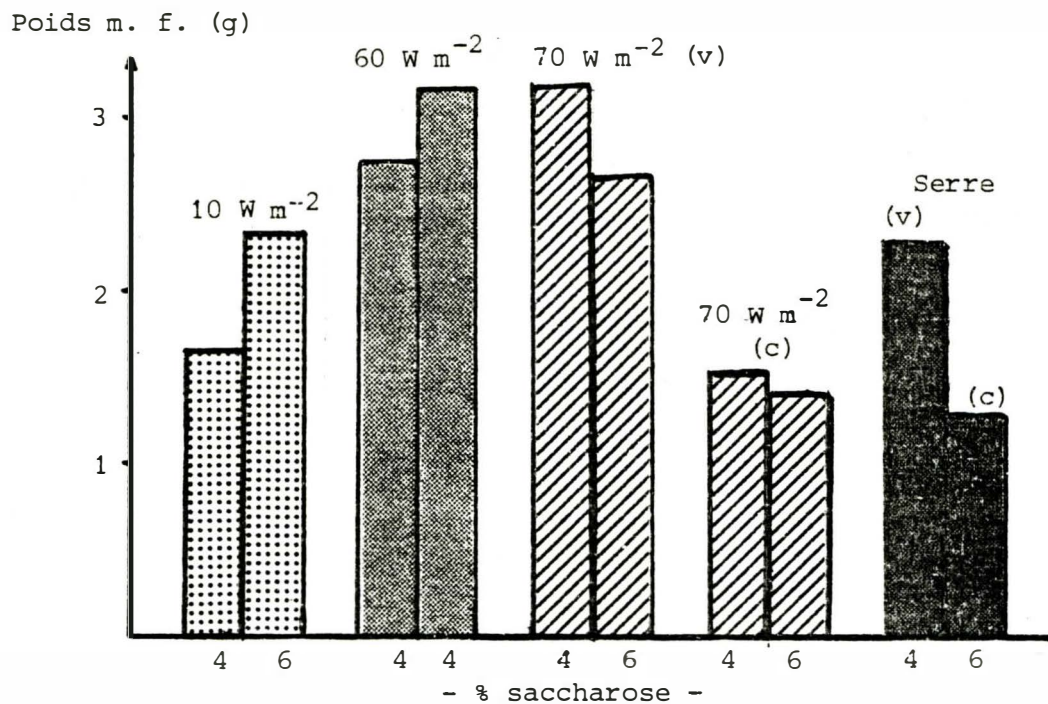


Figure III.9. Influence de l'intensité lumineuse, de la teneur en saccharose et du type de bouchage sur le poids des plants à la sortie d'*in vitro*. 6ème. groupe d'expériences, (I.R.F.A. - Montpellier, I.N.R.A. - Montfavet; août 1987).

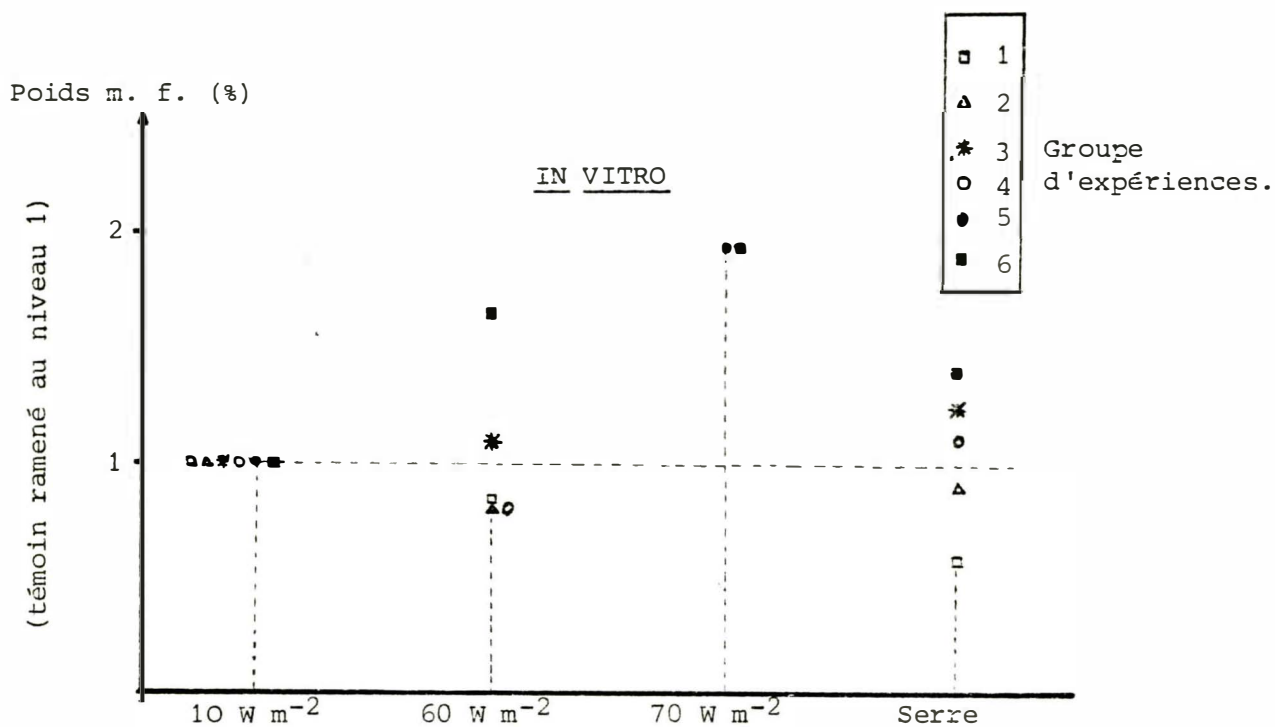


Figure III.10. Effets de la quantité de lumière fournie *in vitro*, sur le poids final de la matière fraîche. Les témoins sont ramenés au niveau 1. (I.R.F.A. - Montpellier, 1987).

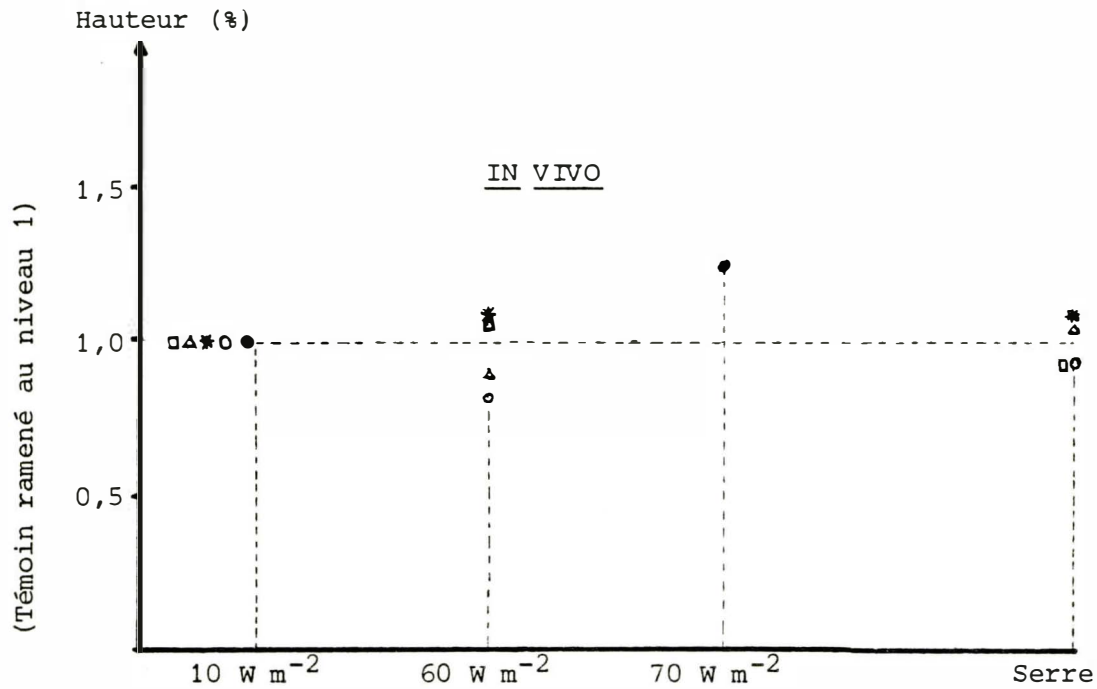


Figure III.11. Incidence de l'intensité lumineuse fournie in vitro sur la croissance de vitroplants lors du transfert. Les témoins sont ramenés au niveau 1. (I.R.F.A. - Montpellier, 1987.)

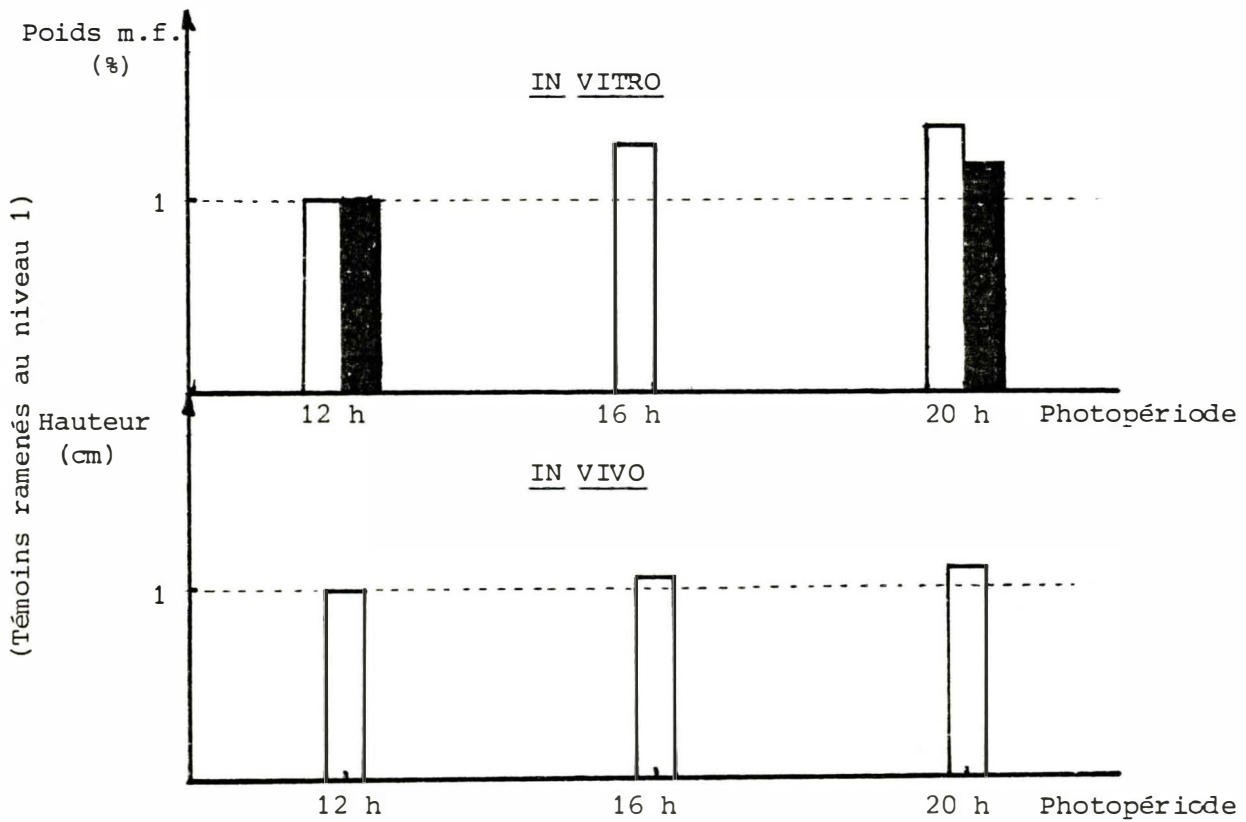


Figure III.12. Influence de la photopériode sur la croissance des plants in vitro (groupes d'expériences 3 et 6) et in vivo (groupe d'expériences 3). Les témoins sont ramenés au niveau 1 (I.R.F.A. - Montpellier, I.N.R.A. - Montfavet; 1987).

Par contre, pour les traitements en serre, en diminuant les écarts de température à l'intérieur du tube, les plants obtenus présentent des poids plus importants (figure III.10).

Lors du transfert (figure III.11) on constate que le développement des plants ayant reçu 60 W.m^{-2} (enceintes Montfavet, lampes à vapeur Hg) n'est pas toujours meilleur à celui du témoin. Ici les résultats sont assez contradictoires, ce qui est sans doute expliqué par l'effet de température. Cette observation est la même pour les traitements en serre.

Toutefois, le résultat le plus intéressant est celui des plants à 70 W.m^{-2} (enceintes Montpellier, lampes fluorescentes mélangées) où l'intensité lumineuse est plus forte et le contrôle de la température parfait. (Voir schéma III.1.).

Les différences morphologiques sont évidentes (schéma III.1). A 10 W.m^{-2} les plantes présentent des gaines foliaires plus longues (étiolées ?) et des limbes acumminés et pliés ; la pseudotige est mince.

A 70 W.m^{-2} les plantes ont des pseudotiges moins longues mais beaucoup plus épaisses. On distingue bien le corme. Les limbes sont expansés et plus pâles. Les racines sont abondantes par rapport à 10 W.m^{-2} .

2.2. Effets de la photopériode à 60 W.m^{-2}

Des photopériodes différentes ont été testées au niveau 60 W.m^{-2} seulement. Les différences dues à la quantité de lumière apportée sont parfaitement comparables, du fait que le contrôle de la température est le même.

Les résultats montrent (figure III.12) qu'à des photopériodes plus longues, la croissance de la plante est meilleure, que ce soit in vitro ou in vivo. La conséquence de cette observation est importante puisqu'on peut dire qu'en général, le meilleur développement en acclimatation a été obtenu avec des vitroplants plus lourds à la sortie d'in vitro.

2.3. Effets du type de bouchage

Le tableau III.5 et les figures III.6 et III.9 montrent ces effets. Le schéma III.1 montre les différences morphologiques. Des plants plus petits mais d'un vert plus foncé sont obtenus avec les bouchons en cellulose. La teneur en matière sèche est plus importante (tableau 3.3., annexe IV).

2.4. Effets de la température

On a vu que des écarts très grands de température pendant la phase in vitro causent des arrêts de la croissance de la plante. On peut constater ceci dans les traitements à 60 W.m^{-2} et en serre (figures III.10 et III.11).

Dans l'expérience cinq, ceci est démontré en cultivant les plants sous une thermopériode in vitro de 20°C la nuit et 28°C la journée. Les figures III.7 et III.8 montrent clairement que une telle thermopériode est capable d'éliminer les effets positifs d'une forte intensité lumineuse (70 W.m^{-2}) autant in vitro qu'en phase d'acclimatation. C'est pourquoi on a beaucoup insisté sur ce point-là.

Rappelons ici que la croissance optimale du bananier (groupe Cavendish) a lieu entre 26 et 33°C (Flores et al., 1985).

2.5. Effets de la teneur en sucre

A 10 W.m^{-2} une teneur plus forte en sucre améliore le poids du plant à la sortie d'in vitro. Cependant, à 70 W.m^{-2} , la meilleure croissance est obtenue avec 40 g/l de saccharose. Ces effets sont déjà commentés dans les sections 1.4. et 1.6. de ce chapitre.

2.6. Effets de la date du sevrage

Cet effet est peut-être le plus marquant car au fur et à mesure que les photopériodes et températures naturelles augmentent dans l'année, on relève une meilleure croissance lors du transfert (sauf pour le groupe d'expériences N°4).

Les hauteurs moyennes obtenues à la fin de chaque expérience sont montrées dans la figure III.14, où on constate que la moyenne de l'expérience 6 est de loin (+ 100 %) supérieure au premier groupe.

3. Facteurs corrélatifs

Lorsqu'on réalise des expériences avec la lumière, on risque de modifier la morphologie des plants et notamment la hauteur (voir schéma III.1). Dans les expériences ici présentées, on a souvent pris la hauteur comme un paramètre de comparaison entre traitements, pour désigner lequel d'entre eux a eu la meilleure croissance.

La hauteur des plants est un paramètre facile à mesurer et non destructif. Il a été comparé aux autres paramètres et on a trouvé les coefficients de corrélation exposés dans le tableau III.10.

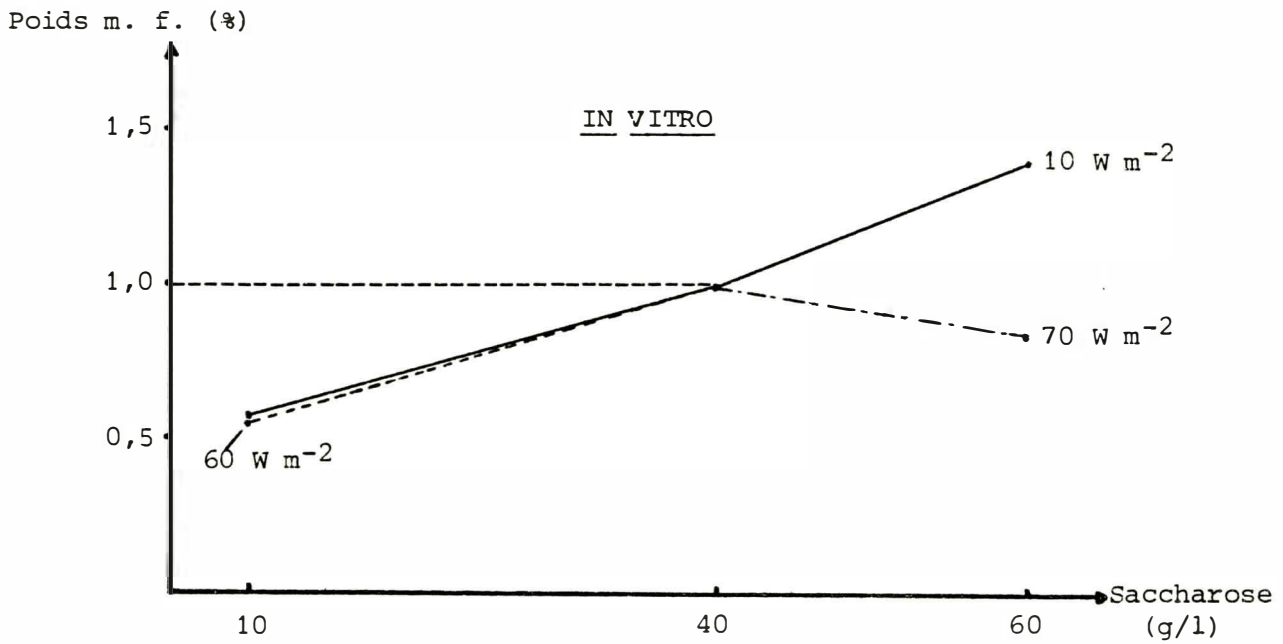


Figure III.13. Influence de la teneur en sucre dans le milieu, sur le poids de la matière fraîche *in vitro*. Les témoins (40 g/l) sont ramenés au niveau 1. (I.R.F.A. - Montpellier, 1987.)

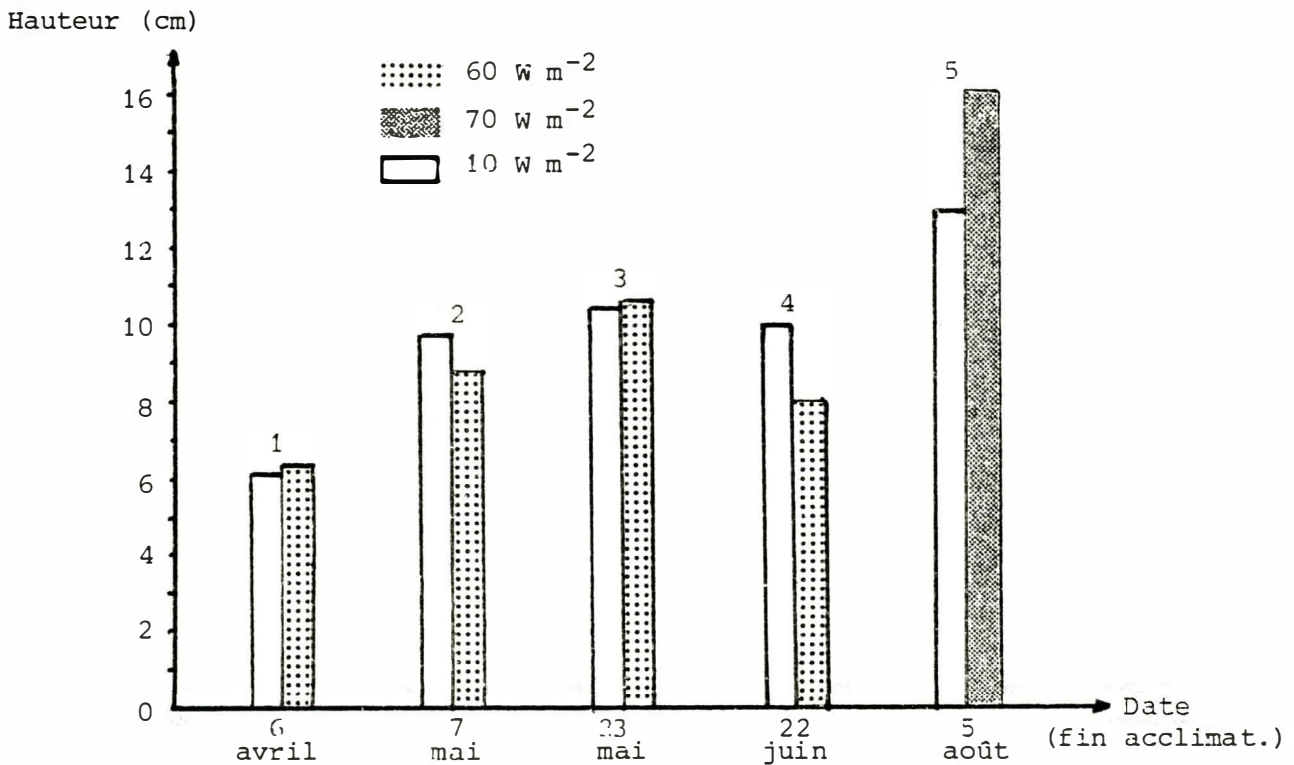


Figure III.14. Effet de la période d'acclimatation (saison) sur la croissance des vitroplants. Groupes d'expériences 1 à 5. (I.R.F.A. - Montpellier, 1987.)

Bien qu'au début de la phase d'acclimatation, les hauteurs sont différentes pour les divers traitements, on constate à la fin de celle-ci que les plants les plus hauts sont aussi ceux qui présentent la surface foliaire, le diamètre de la pseudotige et le poids de la matière fraîche et sèche les plus importants. Ceci veut dire que c'est l'information stocké dans les cellules des plants, le facteur qui commande le développement ultérieur de ceux-ci.

Tableau III.10. Coefficients de corrélation obtenus pour l'ensemble des plants. Hauteur (H)_{vs}. surface foliaire, diamètre de la pseudotige, poids de la matière fraîche et poids de la matière sèche (I.R.F.A. Montpellier, 1987)

Groupes d'expériences	Variable expliquée : H (hauteur)			
	Coefficients de corrélation (r) avec :			
	Surface foliaire	Diamètre	Poids m.f.	Poids m.s.
3	0,89	0,84	0,91	0,86
4	0,99	0,96	-	-
5	0,79	0,79	0,82	-

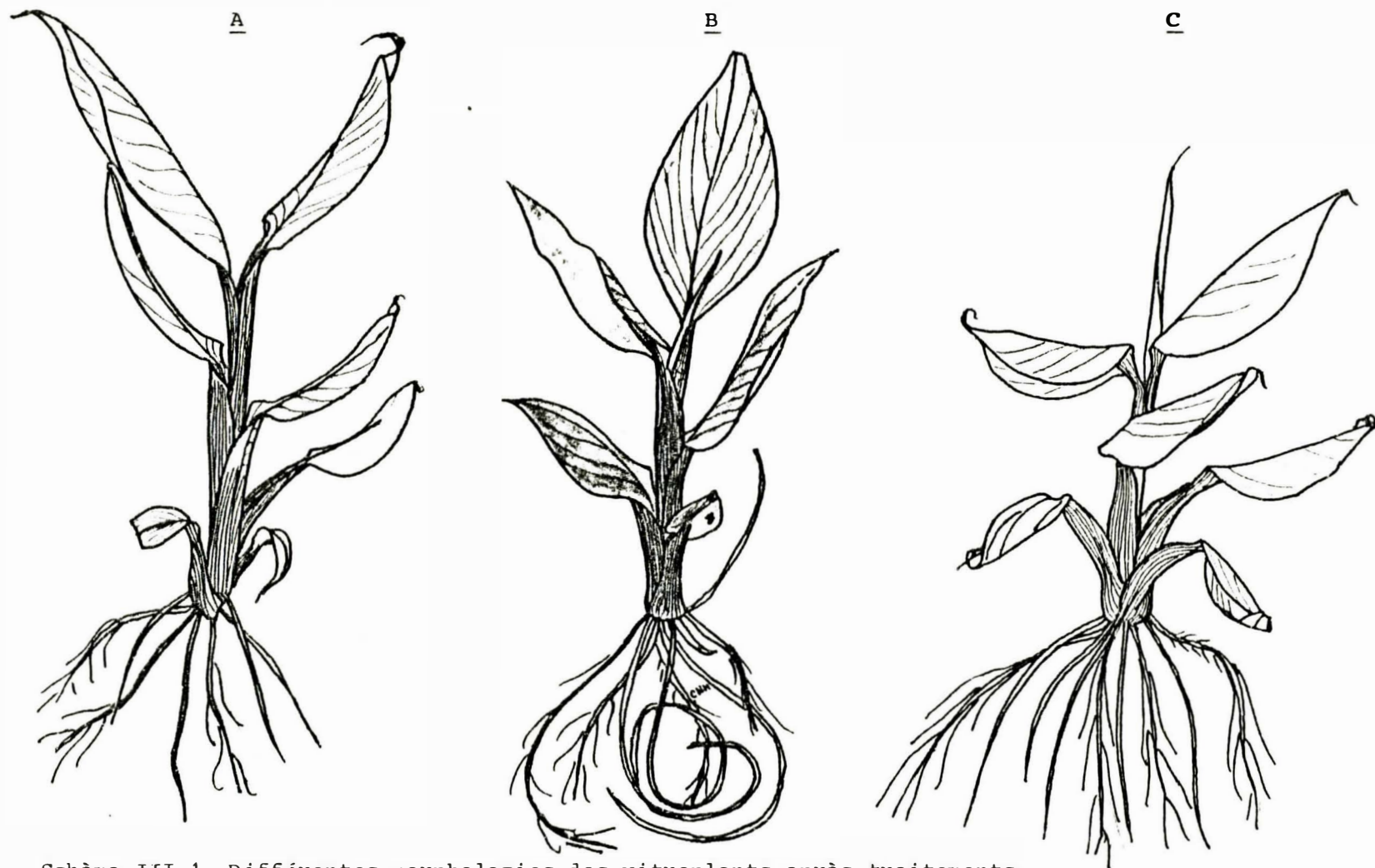


Schéma III.1. Différentes morphologies des vitroplants après traitements. Plantes exposées à 10 W m^{-2} (A) et à 70 W m^{-2} soit avec bouchon en cellulose (B), soit avec bouchon en verre (v). (I.R.F.A. - Montpellier, 1987.)

4. Analyses minérales et des sucres

Les analyses n'ont pas été faites sur tous les groupes d'expériences. Ceci est spécifié dans l'annexe IV où les résultats obtenus sont exposés dans des tableaux.

4.1. Analyse du milieu gélosé en fin de prolifération

Le milieu gélosé est celui qui reste dans la boîte de Petri après la phase de multiplication. Après culture, la consommation des sucres a été très importante (plus de 50 %). Le taux de saccharose a fortement diminué alors que celui de fructose et de glucose s'élève (tableau 1.A.1.). On constate (tableau 1.A.2) une disparition totale de P et K et presque totale de N et Mg. Apparemment, on devrait enrichir ce milieu en vue de produire des plants mieux alimentés avant d'entrer en phase de croissance.

4.2. Analyse des bananiers en fin de prolifération

Les bananiers constituent les explants de départ de nos expériences. D'après MARCHAL (1987, communication personnelle) par rapport à des résultats antérieurs (VITROPIC, 7/11/86) on constate que ces bananiers sont très largement plus riches en tous les éléments excepté N (tableau 1.A.3.).

4.3. Analyse du milieu vierge (gélosé) de croissance au début de l'expérimentation

L'analyse a été réalisée quelques jours après la préparation et l'autoclavage. Il est remarquable que la saccharose n'est pas le seul sucre présent. Il existe également du fructose et du glucose. De plus, la teneur totale est supérieure à la dose théorique (tableau 1.A.1.).

4.4. Groupe d'expériences N°1. Influence des différents niveaux d'éclairement

4.4.1. Analyse des milieux gélosés (tableau 1.B.1.)

Pour le milieu "vierge", une certaine hydrolyse du saccharose est vérifiée. Une perte d'eau est probable puisque les sucres sont détectés à une concentration supérieure à 4 %.

Dans les milieux avec bananiers on retrouve le phénomène d'"hydrolyse" bien que la proportion des sucres présents est beaucoup plus équilibrée par rapport au milieu "vierge".

Il y a bien eu consommation de sucres : les teneurs totales diminuent par rapport au milieu vierge (sauf à 10 W.m⁻² et sous serre, 2ème répétition) (tableau 1.B.1.). Il est d'ailleurs probable que même si la concentration n'a pas diminué ou a augmenté, il y a eu consommation de sucres ; la consommation en eau par la plante ou l'évaporation ayant provoqué une concentration du milieu.

La teneur en sucre dans le milieu est cependant importante. Bien que la plante a pu consommer une partie importante, le contrôle de la pression osmotique du milieu par les sucres, joue sans doute, un rôle très important.

Analyses minérales (tableau 1.B.2.)

Pour le milieu vierge, la teneur en Fe est très élevée (autour de 4 mg/100 g) par rapport au milieu neuf du tableau 1.A.2. (0,90 mg/100 g). Il y a eu sûrement quelques contaminations. Egalement la teneur en P et K est très supérieure à ce milieu précédent.

Il y a un appauvrissement du milieu après culture par rapport au milieu vierge en N, P et K et moindre en Ca. Les autres éléments n'ont pas évolué apparemment (tableau 1.B.B.). Les éléments sont loin d'être épuisés puisqu'en moyenne pour N, P ou K la concentration a été réduite de 1/3 environ. Ce fait est logique car on a utilisé 30 ml de milieu pour un seul bananier alors que dans une production industrielle (VITROPIC) ce volume sert à nourrir 5 bananiers en boîte de Petri.

4.4.2. Analyse minérale des bananiers

Bananiers entiers (partie aérienne + racines).

Il est intéressant de noter que la plus faible teneur en matière sèche est celle du traitement à 10 W.m⁻². C'est avec le rouge sombre (60 W.m⁻²) que les teneurs en éléments minéraux (tableau 1.B.3.) sont les plus faibles excepté pour Fe. Il ne s'agit pas seulement d'un effet de dilution dans des bananiers plus gros car les quantités d'éléments immobilisés sont également plus faibles (tableau 1.B.4.). Inversement, les bananiers qui sont les moins lourds (sous-serre) n'ont pas les teneurs les plus élevées en éléments, si bien que les contenus en chacun d'eux tendent à être les plus bas des cinq cas étudiés.

Racines seules (tableaux 1.B.3. et 1.B.4.).

Elles représentent environ 40 % du poids des bananiers. Leur teneur en matière sèche est plus élevée que pour la partie aérienne.

Comme pour les bananiers entiers à 100 W.m^{-2} , c'est avec le rouge sombre que les teneurs sont les plus faibles pour la plupart des éléments (N,P,K et Zn notamment).

Les bananiers des traitements 10 W.m^{-2} et serre donnent des teneurs sensiblement plus fortes en N,P et Mn. La proportion de K contenu dans les racines est importante. Le niveau élevé en Fe dans les racines est un caractère habituel (faible mobilité de l'élément ?).

4.5. Groupe d'expériences N°2

Influence de la quantité de lumière et de la présence ou non de charbon actif dans le milieu.

4.5.1. Analyse des milieux gélosés

Teneur en sucres (tableau 2.1.). Dans le milieu vierge pratiquement les mêmes caractères que pour l'essai antérieur, sont retrouvés : une certaine hydrolyse du saccharose et une teneur plus forte en sucres totaux à la fin de l'expérience. A intensité lumineuse égale, ce milieu est plus riche en sucres totaux s'il y a eu ajout de charbon actif.

La présence de bananiers provoque l'habituelle (mais toujours non expliquée) augmentation de la concentration en glucose et fructose. Le saccharose reste le sucre principal et le fructose est le moins abondant. Sans charbon actif, à 60 W.m^{-2} et à 10 W.m^{-2} il y a une apparente concentration en sucres totaux comparativement au milieu vierge.

En regardant ces résultats, apparemment, la consommation des sucres est faible. Elle est sûrement plus importante car le milieu devient concentré au fur et à mesure que la plante réalise son alimentation hydrique.

Analyses minérales en tubes (tableau 2.2.).

Après la culture de bananiers, l'appauvrissement du milieu est très voisin quelle que soit l'énergie appliquée et avec ou sans charbon actif. Cet appauvrissement est plus marqué en N et P et nettement plus limité en K. La consommation de Ca et Mg apparaît très limitée.

Analyses minérales en boîte de Petri (tableau 2.2.).

Seuls les milieux vierges ont été analysés. La surface d'évaporation est un facteur lié à la concentration du milieu. Celle-ci se classe dans l'ordre des énergies fournies : $10 \text{ W.m}^{-2} < 60 \text{ W.m}^{-2} < \text{Serre}$ (où elle est très importante).

4.5.2. Analyses minérales de bananiers

Racines . Systématiquement, le poids frais ou sec de racines d'un bananier en tube est plus faible avec l'apport de charbon actif (tableau 2.5.). Cependant, les teneurs en matière sèche tendent à être plus élevées avec le charbon actif sauf à 60 W.m^{-2} (tableau 2.3.).

Dans les racines moins lourdes (charbon actif) les taux de N, P et K sont toujours les plus importants. Les autres éléments varient peu (tableau 2.3.). Il n'y a pas d'effet apparent des énergies sur les teneurs en éléments.

En boîtes de Petri, où il y a cinq bananiers, tous les éléments sauf Mn sont à des teneurs plus faibles qu'en tubes, malgré la forte concentration du milieu, il existe une très forte réduction du niveau du fer. Les teneurs en N, P, Mg et Mn sont les plus élevées sous serre.

Parties aériennes. Pour les plants en tubes, on observe une teneur en matière sèche d'autant plus grande que l'intensité lumineuse est plus forte, bien que les poids frais ne révèlent pas ce fait. Les effets sont plus importants en présence du charbon sauf sous serre.

Les différences en teneurs en éléments minéraux sont très limitées. avec ou sans charbon actif (tableau 2.4.) avec une réduction du taux de N et K à 10 W.m^{-2} . Les variations sont peu importantes.

En boîte de Petri on a obtenu les teneurs en m.s. plus importantes de cet essai.

Pour N,P,K, Ca et Fe, les teneurs et les masses d'éléments sont nettement plus basses qu'en tubes (avec des poids d'organes voisins).

L'appauvrissement en eau du milieu serait donc défavorable :

- sur l'absorption de Fe par les racines puis le transfert de celui-ci dans les parties aériennes,
- sur la migration de N,P,K et Ca des racines qui les ont accumulés en liaison avec la concentration du milieu, vers les parties aériennes.

4.6. Groupe d'expériences N°3

Influence de la quantité de lumière et du mode de bouchage des tubes de culture sur la composition des milieux et des bananiers in vitro.

4.6.1. Analyse des milieux gélosés

Teneur en sucres. Avec bouchon en cellulose, on constate une forte concentration des sucres (jusqu'à 50 %) dans le milieu vierge (tableau 3.1.) et une hydrolyse très importante, surtout pour la photopériode de 12 heures et moindre pour le traitement en serre.

On constate de nouveau, pour les milieux avec des bananiers, l'apparition d'une plus forte quantité de glucose et de fructose en fin de croissance. On a pu mesurer un pH de 3,5 au même stade ce qui pourrait jouer un rôle dans cette hydrolyse.

La forte évaporation avec des bouchons en cellulose produit une concentration plus importante du milieu.

La teneur totale est d'autant plus faible que l'éclairement est long avec le bouchon de cellulose.

Analyses minérales (tableau 3.2.).

Les résultats en teneurs sont modifiés par les phénomènes d'évaporation : certains éléments relativement peu consommés se trouvent à des concentrations plus fortes que dans le milieu vierge. Il faudrait pouvoir faire des dosages de quantités de milieu consommé.

Toutefois, une interprétation meilleure de ce phénomène "d'évaporation-concentration" doit pouvoir être faite en regardant la teneur dans les bananiers.

Après la culture, les milieux des tubes bouchés avec de la cellulose sont toujours les plus concentrés.

Leur concentration décroît avec l'augmentation de la durée de l'éclairement en accord avec l'augmentation de la masse d'éléments immobilisés dans les bananiers. Il est probable aussi que l'éclairement plus long aura provoqué une plus forte évaporation.

4.6.2. Analyses minérales de bananiers (tableaux 3.3. et 3.4.)

La teneur en matière sèche est plus importante avec :

- des bouchons en cellulose,
- des photopériodes moins longues à 60 W.m^{-2} .

Les poids de la matière fraîche et de la matière sèche s'accroissent avec la durée de l'éclairement. Le poids de la matière fraîche est plus important quand le bouchon est en verre mais l'inverse est observé avec la matière sèche qui est plus grande lors du bouchage en cellulose. Ce qui peut s'expliquer par les phénomènes "d'évaporation-concentration" qui sont sûrement plus forts avec des bouchons en cellulose.

A 60 W.m^{-2} le mode de bouchage joue peu sur la teneur en éléments. Mais avec 20 h d'éclairement les teneurs chutent très fortement en liaison avec l'augmentation de la matière sèche des plants : les mêmes quantités d'éléments sont disponibles dans les milieux où la masse végétale est plus importante, il y a donc des effets de dilution.

Dans les milieux (tableau 3.2.) il y a un rapport de 10 entre les teneurs en K et P ; celui-ci est retrouvé dans les plantes (tableau 3.4.).

Les quantités d'éléments sont fortement influencées par les poids de la matière sèche et donc l'absorption des éléments est plus importante avec les plants cultivés avec le bouchage de cellulose.

Avec le bouchage de cellulose, plus la durée de l'éclairement est longue, plus les quantités d'éléments absorbés sont importantes.

Avec le verre, par contre, un maximum est observé avec la photopériode 16 heures pour N, P, K, Mn et Zn.

A 10 W.m^{-2} ou en serre, les quantités absorbées sont plus faibles qu'à 60 W.m^{-2} et très voisines.

4.7. Teneurs et rapports ioniques des éléments minéraux des vitroplants de bananiers

Dans la section 2.2.2. (la nutrition des vitroplants en sevrage), du chapitre II, les tableaux II.3 et II.4 exposent les niveaux critiques en éléments minéraux de rejets et de plantes de bananiers en phase de croissance foliaire.

Afin de pouvoir comparer ces données avec les vitroplants de bananiers, on a rassemblé dans le tableau III.11 leurs teneurs en éléments minéraux, lors du transfert.

On constate que ces vitroplants dépassent largement les niveaux critiques indiqués par LAHAV et TURNER (1983, tableau II.3) (sauf pour le Ca) et par SOTO (1985, tableau II.4) (sauf pour Ca, Mg et Mn).

Ainsi, on trouve un accroissement du N ($\times 2$) et du P ($\times 2,5$) plus important que celui du K ($\times 1,5$). Le Mg, le Fe, le Mn et le Zn sont présents en quantités de deux à huit fois supérieures. Les teneurs en N, Ca, Mg et Mn sont beaucoup plus faibles dans les racines que dans la partie aérienne (dû à la translocation ?). Cette différence est moins importante pour le P, le K, le Ca et le Zn. Par contre, la teneur en Fe dans les racines est très élevée par rapport aux parties aériennes.

Les teneurs du Ca ($\sim 0,49\%$), du Mg ($\sim 0,17\%$) et du Mn (~ 400 ppm) sont inférieures à celles de plantes adultes (0,71 à 1 % de Ca ; 0,18 à 0,36 % de Mg et 650 ppm de Mn) bien que supérieures aux niveaux critiques indiqués par SOTO (1985, tableau II.4).

Des rapports ioniques de ces éléments sont présentés dans le tableau III.12 pour des vitroplants et dans le tableau II.5 pour des bananiers adultes.

Les différences entre ces tableaux sont une conséquence des résultats montrés ci-dessus. Avec les très fortes quantités de N et de K, le rapport K/N des vitroplants est inférieur à celui des bananiers adultes.

Le rapport K/Ca est plus élevé chez les vitroplants ; l'absorption en K est supérieure et celle en Ca inférieure à celles des plantes adultes. Ce phénomène est plus marqué dans les racines.

Toutefois, le rapport Ca/Mg rentre parfaitement dans les niveaux normaux autant pour la partie aérienne que pour les racines.

Les pourcentages des cations K^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} ne sont pas très différents et il est clair dans les deux cas que $\% K^+ \gg \% Ca^{2+} > \% Mg^{2+}$.

Tableau III.11 Niveaux nutritionnels dans les vitroplants de bananier, lors du transfert ,
(I.R.F.A. - Montpellier). (1)

Elément rapporté à la matière sèche)	Gp. d'exp.1			Gp. d'exp. 2			Gp. d'exp. 3		
	10 W.m ⁻²	60 W.m ⁻²	Serre	10 W.m ⁻²	60 W.m ⁻²	Serre	10 W.m ⁻²	60 W.m ⁻²	Serre
N %	5,13 ^a 3,11 ^b	5,00 2,79	4,65 3,51	6,37 ^c 2,87 ^b	6,78 2,79	6,72 2,91	4,24 ^a	4,68	5,04
P %	0,391 0,356	0,427 0,333	0,425 0,435	0,498 0,351	0,490 0,358	0,519 0,363	0,384	0,442	0,389
K %	4,28 4,39	4,54 4,32	3,86 4,04	4,38 3,94	4,60 3,71	4,80 3,87	3,85	4,08	3,89
Ca %	0,402 0,187	0,418 0,215	0,348 0,203	0,499 0,196	0,495 0,208	0,477 0,205	0,364	0,378	0,354
Mg %	0,132 0,072	0,143 0,073	0,119 0,076	0,170 0,081	0,167 0,085	0,169 0,081			
Fe ppm	555 1178	494 1166	644 1320	233 963	204 993	225 1038	394	458	415
Mn ppm	276 104	308 91	261 112	407 68	417 68	379 72	223	243	245
Zn ppm	107 160	129 155	136 158	136 161	149 172	183 152	131	154	141

a = bananier entier ; b = racines ; c = partie aérienne.

(1) Tableau issu des tableaux 1.B.3, 2.3, 2.4 et 3.3 de l'annexe V.

Tableau III. 12 . Rapports ioniques des éléments minéraux dans des vitroplants de bananiers lors du transfert ; (I.R.F.A. - Montpellier).

RAPPORT IONIQUE	Gp. d'exp. 1			Gp. d'exp. 2			Gp.d'exp. 3		
	10 W.m ⁻²	60 W.m ⁻²	Serre	10 W.m ⁻²	60 W.m ⁻²	Serre	10 W.m ⁻²	60 W.m ⁻²	Serre
K/N	0,83 ^a 1,41 ^b	0,91 1,55	0,83 1,15	0,69 ^c 1,37 ^b	0,678 1,33	0,71 1,85	0,91 ^a	0,87	0,77
K/Ca	10,65 23,5	10,9 20,1	10,1 19,9	8,78 20,1	9,3 17,8	10,06 18,9	10,6	10,8	11,0
Ca/Mg	3,05 2,6	2,92 2,95	2,92 2,67	2,93 2,42	2,96 2,5	2,82 2,5	2,7	2,64	2,65
K ⁺ /C ⁺	89 % 94,4%	89 % 93,8%	89,2 % 93,5%	86,7 % 93,4%	87,4 % 92,7%	88 % 93,1%	88,6 %	88,7 %	89,1 %
Ca ²⁺ /C ⁺	8,4% 4%	8,2% 4,7%	8% 4,7%	9,9% 4,6%	9,4% 5,2%	8,8% 4,9%	8,4%	8,2%	8,1%
Mg ²⁺ /C ⁺	2,7% 1,6%	2,8% 1,6%	2,8% 1,8%	3,4% 1,9%	3,2% 2,1%	3,2% 2,0%	3,0%	3,1%	2,8%

a = bananier entier, b = racines, c = partie aérienne

C⁺ = K⁺ + Ca²⁺ + Mg²⁺

CONCLUSION

Les expériences menées ont permis de montrer que le comportement des vitroplants de bananiers pendant la phase de transfert peut être amélioré par des traitements in vitro.

Globalement, l'augmentation de l'énergie lumineuse (intensité ou durée) appliquée aux bananiers en phase de croissance in vitro se traduit par une amélioration de la croissance au cours du transfert en conditions horticolas.

Le développement des bananiers cultivés sous une énergie de 70 W.m^{-2} avec un mélange de tubes fluorescents est particulièrement satisfaisant.

Il semble que les fortes intensités lumineuses ne favorisent l'augmentation du taux de matière sèche du plant que lorsqu'elles sont associées à un bon contrôle thermique in vitro.

En effet, des bananiers soumis à une énergie de 60 W.m^{-2} dans des enceintes où la régulation thermique s'est trouvée défectueuse, sont moins développés que ceux du lot témoin exposé à 10 W.m^{-2} .

Une diminution de la température nocturne est très défavorable. Lorsque la phase in vitro a lieu en serre ce phénomène a pu masquer en partie les effets de l'énergie lumineuse. Alors que celle-ci, bien que non contrôlée, est très intense. Il existe donc un grand intérêt d'arriver à bien contrôler les températures des traitements dans la serre.

L'apport de rouge clair ou de rouge sombre pendant 1/2 h, en début de phase nocturne n'a entraîné dans les deux cas qu'une modification morphologique du système foliaire : feuilles plus larges et plus acuminées.

L'accroissement des échanges gazeux par l'emploi d'un bouchon en cellulose améliore le comportement des bananiers sevrés. Il permet aussi de mieux valoriser les incidences de la quantité totale (intensité ou durée) de la lumière apportée. Cet effet pourrait traduire un comportement autotrophe plus important in vitro. La diminution de l'humidité relative à l'intérieur des tubes peut également intervenir; dans les deux cas, l'emploi de bouchons de cellulose diminuerait les chocs -trophique ou hydrique- au cours du transfert.

Une concentration en saccharose plus forte (6 %) que celle du témoin (4 %) s'avère favorable à des intensités de 10 W.m^{-2} , mais à 70 W.m^{-2} elle a des effets négatifs. Ceci implique des études approfondies de l'interaction de la lumière avec la pression osmotique et la composition minérale et hydrique du milieu en vue de trouver un milieu adapté aux conditions spécifiques de croissance.

La stimulation de la formation et du fonctionnement de l'appareil photosynthétique soit par des fortes intensités lumineuses, soit par une photopériode longue, a des conséquences diverses sur les plants in vitro.

La consommation en CO_2 est sans doute plus élevée. C'est pourquoi des meilleurs résultats avec des bouchons en cellulose ont été trouvés. Le suivi de l'évolution des gaz (CO_2 , O_2 , C_2H_4 et H_2O) devrait être un indicateur de l'activité physiologique de la plante in vitro. Par ailleurs, des recherches avec de plus fortes concentrations en CO_2 in vitro devraient être faites dans le but d'augmenter la production de biomasse.

Sur ce point, il serait intéressant de pouvoir réaliser des observations sur la morphologie de la plante, l'anatomie tissulaire, la présence de cire épicuticulaire et le fonctionnement des stomates dont dépendent les phénomènes de respiration, de transpiration et d'échanges gazeux.

L'utilisation des bandes monochromatiques du spectre lumineux doit désormais être préconisée dans la recherche des réponses physiologiques qui renforcent l'action des facteurs physiques et chimiques jusqu'à maintenant utilisés. Le suivi de ces phénomènes pourrait mettre en évidence le rôle des photorécepteurs qui dirigent des programmes cellulaires comme la synthèse des pigments, la division cellulaire, la différenciation des stomates et même des différenciations cellulaires conduisant à la micropropagation des pousses ou à l'enracinement des microboutures.

L'optimisation de l'ensemble des facteurs ici mentionnés, en vue d'obtenir des vitroplants d'une qualité supérieure, devra être le résultat d'une modélisation qui optimise les variables à étudier.

L'écologie de la plante est grandement impliquée et doit être considérée lors de la planification des expériences.

Celles-ci permettront de mieux connaître la physiologie de la plante in vitro et devraient aider à déterminer les meilleures conditions de culture in vitro en fonction de l'espèce végétale, de l'organe cultivé et surtout du type de réponse qu'on veut obtenir.

BIBLIOGRAPHIE

- ALDRUFEU, A. 1985. Rooting and acclimatation of Pelargonium zonale plantlets.
- BRUINSHA, J. 1963. The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts. Photochem. and Photobiol. (chlor. Metabol. Symp.), 2 : 241 - 249.
- CHAMPION, J. 1962. Le bananier. G. - P. Maisonneuve & Larose, Paris (Ve). pp. 1 - 49.
- CHAMPION, J. 1967. Notes et documents sur les bananiers et leur culture. Tome I. Editions SETCO, Paris. pp. 1 - 75.
- CERBON, J. et VILLEGAS, T. 1983. Lipid composition and turnover in heterotrophic cell suspension cultures of Saccharum officinarum. Plant Cell Tissue Organ Culture. 2 : 317 - 326.
- CHEE, R. 1986. In vitro culture of Vitis : the effects of light spectrum, manganese sulfate and potassium iodide on morphogenesis. Plant Cell Tissue Organ Culture. 7 : 121 - 134.
- ECONOMOU, A.S. 1986. Light treatments to improve efficiency of in vitro propagation systems. Hortscience, 21 (3) : 819.
- FLORES, E.M., SOTO, M. et BOLANOS, R. 1985. Vanacion estacional des sistema foliar de cinco clones de banano. Turvialba 35 (4) : 339 - 346.
- FOURNIOUX, J.C. et BESSIS, R. 1985. Influence en la teneur de gaz carbonique sur la morphogenèse de la vigne en culture in vitro. Can.J. Bot. 64 (11) : 2608 - 2616.
- GANRY, J., C. TEISSON et MARCHAL 1986. Protocole de sevrage des vitroplants destinés aux expérimentations. Non publié.
- GARCIA RODRIGUEZ A., J.R. LORENZO et M.J. RODRIGUEZ ENRIQUEZ. 1985. In vitro culture of Canary Island banana (Musa acuminata AAA, Colla var. Dwarf cavendish). Studie of factors affecting culture obtention, preservation and conformity of the plants. (*)
- GEORGE, E.F. et P.D. SHERRINGTON 1984. Plant propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. pp. 125-183. Exegetics Ltd. Hants. England.

- GRANT, I., BEVERSDORF, W.O. et ZILKA, V. 1983. Response of light and dark-grown callus of atrazine resistant and susceptible rapeseed (Brassica napus) to varying concentrations of atrazine. Plant Cell Tissue Organ Culture 2 : 185 - 189.
- JACQUES, R. 1982. Croissance et développement. Physiologie Végétale II. Chapitre 1.B. Le phytochrome. Ed. Hermann, Paris. Présenté par Paul Mazliak.
- JACQUES, R. 1986. Proposition de programme de recherche pour étude de l'influence de la lumière en culture in vitro. Non publié.
- KRIKORIAN, A.D. et CRONAUER, SS. 1984. Handbook of Plant Cell Culture. Vol. 2. pp. 327 - 348. Mc Millan Publishing Company, New York, U.S.A.
- KUMAR, A., BENDER, L., PAULER, B., NEUMANN, K.H., SENGHER, H. et JESKE, C. 1983. Ultrastructural and biochemical development of the photosynthetic apparatus during callus induction in carrot root explants. Plant Cell Tissue Culture 2 : 161 - 177.
- KUMAR, A., BENDER, L. et NEUMANN, K.H. Growth regulation, plastid differentiation and the development of a photosynthetic system in cultured carrot root explants as influenced by exogenous sucrose and various phytohormones. Plant Cell Tissue Organ Culture 3 : 11 - 28.
- LANGHANS, R.W., R.K. HORST et E.D. EARLE, 1977. Hortscience 12 (2) : 149 - 150.
- LAVIGNE, C. et NOLIN, J. 1987. Influence des conditions de culture sur la croissance des vitroplants de bananiers. Rapport I.R.F.A./C.I.R.A.D.-Guadeloupe. 9 p.
- LEONHARDT, W. et R. KANDELER. 1985 Ethyleneaccumulation in culture vessels - a reason for vitrification ?
- MAENE, L. et P. DEBERGH. 1985. Optimisation of the transfer of tissue cultures shootlets to in vivo conditions. (*)
- MARGARA, J. 1982. Bases de la multiplication végétative. I.N.R.A. Paris VIIe.
- MARIN, J.A. et R. GELLA 1985. Acclimatization of the micropropagated cherry rootstock "Masto de Montanana" (Prunus cerasus L.). (*)
- MARTIN-PREVEL, P. 1984. Bananier. L'analyse végétale dans le contrôle de l'alimentation des plantes. Tec et Doc. Paris 8e pp. 715 - 751.
- MOHR, H. 1969. Photomorphogenesis. Physiol. Plant Growth Develop. Ed. M.B. Williams, Mc Graw-Hill Londres. pp. 509 - 554.

PASSAKA, B. 1987. Mémoire de fin d'études. E.S.A.T. - I.R.F.A. Montpellier
85 p.

READ, P.E. et ECONOMOU, A.S. 1982. Supplemental lighting in the propagation of deciduous ataleas. Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society 1982. 3 (2) : 639 - 645.

ROBERTS, L.W. 1983. The influence of physical factors of xylem differentiation in vitro. In : DODDS, J.H. Tissue Culture of Trees. The Avi Publishing Company; Inc. Westport, Conn. 1983. pp. 88 - 102.

SEABROOK, J.E.A. 1985. Changing the Growth of Potato Plantlets in vitro by varying the Illumination Source. (*)

SCHOCH, P.G., R. JACQUES, A. LECHARNY et M. SIBI 1984. Dependence of the Stomatal Index on Environmental Factors during Stomatal Differentiation in Leaves of Vigna sinensis L. II. Effect of different light quality. J. of Exp. Bot., 35 (159) : 1405 - 1409.

SCHOCH, P.G., ZINSOU, 1975. La lumière : facteur important dans le déterminisme de la formation des stomates. C.R. Acad. Sc. Paris, t. 280, Série D : 1563 - 1566.

SCHOCH, P.G., C. ZINSOU et M. SIBI. 1980. Dependence of the Stomatal Index on Environmental Factors during Stomatal Differentiation in Leaves of Vigna sinensis L. 1. Effect of light intensity. J. of Exp. Bot., 31 (124) : 1211 - 1216.

SHANG FA YANG. 1985. Biosynthesis and action of Ethylene. Hortscience, 20 (1) : 41 - 45.

SHORT, K.C., J. WARBURTON et A.V. ROBERTS. 1985. The in vitro Hardening of Cultured Cauliflower and Chrysanthemum Plantlets to Humidity. (*)

SIMMONDS, N.W. 1962. Tropical Science series. The evolution of the bananas. LONGMANS, GREEN and Co LTD. London. UK. pp 5 - 13.

SOTO, M. 1985. Bananos. Cultivo y comercilizacion. 1a. Edicion. Litografia e Imprenta LIL, S.A. Tibas, Costa Rica. pp. 99 - 118, 265 - 290.

TURNER, D.W. et HACKETT, C. 1985. Tabular descriptions of crops grown in the tropics. 6. Banana (Musa spp. Section Eumusa). Technical Memorandum 85/8. Mars 1985. CSIRO. Canberra, Australia.

VERTESY, J. et I. BALLA, 1985. Acclimatization of woody plants under continental conditions. (*)

WALKER, N., R. JACQUES et E. MIGINIAC. 1985. Action of light on rooting in vitro and acclimatization of Sequoia sempervirens to soil. (*)

WAREING, P.F. et I.D.J. PHILLIPS. 1978. The control of growth and differentiation in plants. 2nd edition. Pergamon Press. Oxford, England, pp. 183 - 198.

WILKINS, C.P., J.L. CABRERA et J.H. DODDS. Tissue culture propagation of trees. 1985. Outlook on Agriculture, 14 (1). Pergamon Press. Great Britain.

5.

(*) 1985. Book of abstracts. I. Lectures. II. Posters. Symposium Centre de Recherches Agronomiques, Gembloux, Belgique.

ANNEXE I

MULTIPLICATION VEGETATIVE " IN VITRO " DU BANANIER

Les protocoles présentés ci-dessous correspondent au mode de multiplication végétative in vitro mise au point par les chercheurs du C.I.R.A.D.

Protocole pour l'isolement de l'explant primaire

1. L'explant primaire est isolé à partir soit d'oeillets, soit de rejets . Les feuilles, écailles et gaines de la pseudotige sont éliminées pour obtenir un premier explant de quelques 10 cm ϕ x 5 cm. Les racines du bulbe sont coupées et les restes de sol sont lavés.

2. Les gaines extérieures de la pseudotige sont retirées une par une jusqu'à obtenir un explant de quelques cm³ où se trouve le bourgeon.

3. La partie végétale ainsi obtenue est trempée dans du mercryl-laurilé (mercurobutol) pur, pendant 15 minutes dans un flacon de 250 ml. La solution est maintenue en agitation. Ensuite un rinçage à l'eau stérile est pratiqué sous conditions aseptiques.

4. Une seconde désinfection est faite avec de l'hypochlorite de Ca à 8 % pendant 20 minutes.

5. Après un rinçage à l'eau stérile, l'explant est réduit à une taille de 2 cm ϕ x 2 cm. Celui-ci est de nouveau stérilisé à l'hypochlorite de Ca à 3 % pendant 10 minutes.

6. Un troisième rinçage à l'eau stérile précède la dernière réduction de l'explant à une taille de 1 cm³ à peu près.

Protocole de la phase de démarrage des bourgeons

7. L'apex stérile issu de l'opération antérieure est d'abord coupé en quatre parties dans le sens longitudinal, puis mis en culture. Le milieu de démarrage (B₅A₂) utilisé ici, contient les macro et microéléments de Murashigue-Skoog, les vitamines de Morel, un ajout de 200 mg/l de KH₂PO₄, 3 % de saccharose, 5 mg/l de BAP, 2 mg/l d'AIA et 5 g/l d'agar-agar.

Le pH est ajusté à 5,8 avec du KOH avant l'autoclavage. Les explants primaires sont placés dans des boîtes de Petri de 100 mm ϕ contenant 30 ml du milieu de démarrage. Ils sont maintenus à $27 \pm 1^\circ\text{C}$ et à l'obscurité.

Protocole de la phase de prolifération

8. Après quatre semaines de culture, l'explant primaire commence à produire des bourgeons adventifs. Ceux-ci sont prélevés sous conditions aseptiques et repiqués sur le milieu dit de prolifération. Ce milieu, à la différence de celui de démarrage, contient 2 mg/l de BAP et 6 g/l d'agar-agar.

9. Les cultures sont mises aux mêmes conditions que précédemment pour, au bout de quatre à six semaines, obtenir des nombreux bourgeons qui sont soit réutilisés pour leur multiplication, soit cultivés dans la phase de croissance.

Protocole de la phase de croissance

10. Un bourgeon issu de la phase de prolifération donne habituellement une seule plantule. Ceci a lieu sur le milieu de croissance qui contient les macroéléments et les microéléments de Murshigue et Skoog, un ajout de 200 mg/l de KH_2PO_4 , les vitamines de Morel et 6 g/l d'agar-agar. Le pH est ajusté à 5,8 avec du KOH avant l'autoclavage. On place cinq bananiers par boîte de Petri de 100 mm ϕ contenant 30 ml de milieu de croissance.

11. Les boîtes de Petri sont placées dans des chambres de croissance à température et humidité contrôlées ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ et 50 % H.R.). L'éclairement est fourni avec des lampes fluorescentes donnant 10 W m^{-2} environ, pendant 12 heures/jour.

12. Un mois plus tard, les plants sont prêts soit à être sevrés, soit à être remis dans la phase de prolifération.

Dans le second cas, les jeunes plants sont débarassés de leurs feuilles et le bourgeon est coupé en deux parties suivant l'axe longitudinal. Ceux-ci sont pesés au début de la phase de prolifération (numéro 8).

ANNEXE II

DESCRIPTION DES MATERIAUX UTILISES POUR L'ACCLIMATATION DES VITROPLANTS

1. Le jiffy-7

Le diamètre de la tablette jiffy-7 (1) expansée est de 44 mm et la hauteur de 42 mm. Le jiffy-7 est constitué de tourbe pure, de mousse de haute qualité dont le pH est ajusté à $5,8 \pm 0,3$ par 115 g de chaux par kg de tourbe sèche. Il est enrichi par 15 g d'engrais complet (dont la composition n'est pas indiquée par le fabricant) par kg de tourbe sèche. C'est un substrat à haute capacité de rétention d'eau et d'échange d'air.

2. Le terreau horticole

Celui-ci est un terreau à mottes, mélange de tourbes de Sphaigne noires et blondes, engrais à libération lente et oligoéléments.

Les caractéristiques agronomiques spécifiées par le fabricant (2) sont les suivantes :

Matière organique 20 à 30 % de la matière sèche

Matière sèche 25 à 35 %

Capacité de rétention en eau 700 à 750 % de la matière sèche

Ajoute de 1250 mg/l d'engrais : N (270 mg/l), P_2O_5 (210 mg/l), K_2O (280 mg/l), MgO (25 mg/l), CaO_3 (5 kg/m³) et Fe, Cu, Mo, Mn, Zn et B.

Le pH (H₂O) se situe entre 5,5 et 6,5.

(1) Jiffy Research & Service s/s. Stansevein 9, 0975 Oslo 9, Norvège.

(2) Torfwerke Neuhaus GmbH. 2915 Saterland 1 (RFT) P. ZZa San Leonardo 9. Bronzolo (Bz), Italie.

ANNEXE III

DESCRIPTION DES METHODES UTILISEES POUR LES ANALYSES MINERALES

1. Minéralisation de KJELDHAL pour le dosage de l'azote

Il suffit de 150 mg de matière sèche. On ajoute à l'échantillon du H_2SO_4 concentré, un catalyseur au Se et de l'acide salicylique pour réduire les nitrates dans un matras. Le chauffage de la solution est prolongé une heure après la décoloration de celle-ci. Le minéralisat est repris par l'eau distillée et il est amené à un volume déterminé (75 ml). Le dosage de N est effectué par colorimétrie automatique avec un autoanalyseur TECHNICON (Méthode de Marcelin et Berthelot).

2. Minéralisation par calcination (dosage des autres éléments)

- de P : par colorimétrie automatique avec un autoanalyseur TECHNICON (au Vanado-molybdate).
- de K : par spectrophotométrie d'émission de flamme, automatique.
- de Ca et de Mg : par spectrophotométrie d'absorption atomique, avec addition de Lanthane (pour corriger les interférences spectrales).
- du Fe, de Mn et de Zn : par spectrophotométrie d'absorption atomique.

Le milieu gélosé n'est pas déshydraté, il est minéralisé directement en suivant un protocole identique à celui des échantillons végétaux.

ANNEXE IV

ANALYSES MINÉRALES ET DES SUCRES DES MILIEUX GELOSES ET DES VITROPLANTS DE BANANIER. (Laboratoire de Physiologie Végétale de l'I.R.F.A. - Montpellier)

1. Groupe d'expériences N°1

A - Analyses des milieux gélosés et des vitroplants en début d'expérimentation.

Tableau 1.A.1. Analyse des sucres (g/100 g) (Groupe d'expériences N°1)

Milieu	Saccharose	Fructose	Glucose	Total
Milieu "neuf" de croissance	3,51	0,46	0,37	4,34
Milieu après culture (multiplication)	0,28	0,74	0,63	1,65

Tableau 1.A.2. Analyse minérale (mg/100 g) (Groupe d'expériences N°1)

Milieu	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
Milieu "neuf" de croissance	70	3	93	14	4	0,90	0,55	0,2
Milieu après culture (multiplication)	5	0,0	0,0	0	1	0,65	0,80	0,1

Tableau 1.A.3. Analyse minérale des bananiers (Groupe d'expériences N°1)

Poids échantillonné (matière fraîche : 53,51 g)

(matière sèche : 2,55 g)

% m.s. = 4,77 %

% m.s.					ppm m.s.		
N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
4,48	0,451	5,35	0,605	0,246	275	302	123

B - Analyses des milieux gélosés et des vitroplants en fin d'expérimentation.

Tableau I.B.1. Analyse des sucres des milieux de culture (g/100 g)

Groupe d'expériences N°1

Milieu par traitement	Fructose	Glucose	Saccharose	Total
<u>Milieu de culture "vierge"</u> (six semaines)				
60 W.m ⁻² + rouge sombre	0,38	0,38	4,03	4,79
60 W.m ⁻² + rouge clair	0,34	0,42	3,57	4,33
60 W.m ⁻² + obscurité	0,29	0,42	3,82	4,53
10 W.m ⁻²	0,34	0,42	3,74	4,50
Serre	0,25	0,25	3,70	4,20
<u>Milieu de culture avec bananiers</u> (lère répétition)				
60 W.m ⁻² + rouge sombre	1,26	1,51	1,68	4,45
60 W.m ⁻² + rouge clair	1,43	1,47	1,43	4,33
60 W.m ⁻² + obscurité	1,39	1,47	0,92	3,78
10 W.m ⁻²	1,30	1,34	1,01	3,65
Serre	1,13	1,13	1,34	3,60
<u>2ème répétition</u>				
60 W.m ⁻² + rouge sombre	1,09	1,22	1,55	3,86
60 W.m ⁻² + rouge clair	1,22	1,30	1,30	3,82
60 W.m ⁻² + obscurité	1,34	1,47	0,92	3,73
10 W.m ⁻²	1,51	1,68	1,39	4,58
Serre	1,51	1,22	1,97	5,20

Tableau I.B.2. Analyses minérales des milieux de culture (mg/100 g)

Groupe d'expériences N°1

Milieu par traitement	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
<u>Milieu de culture "vierge"</u> (six semaines)								
60 W.m ⁻² + rouge sombre	62	9	91	17	5	2,2	0,6	0,3
60 W.m ⁻² + rouge clair	63	8	90	16	5	5,1	0,6	0,2
60 W.m ⁻² + obscurité	67	8	88	17	4	2,3	0,6	0,2
10 W.m ⁻²	60	7	84	17	5	4,5	0,5	0,2
Serre	60	9	85	19	5	3,7	0,6	0,3
<u>Milieu de culture avec bananier</u> -lère répétition								
60 W.m ⁻² + rouge sombre	40	7	68	16	5	3,6	0,6	0,3
60 W.m ⁻² + rouge clair	39	6	68	15	5	4,4	0,6	0,3
60 W.m ⁻² + obscurité	37	5	63	15	5	2,7	0,6	0,3
10 W.m ⁻²	35	5	62	16	5	4,5	0,5	0,3
Serre	42	5	68	15	5	2,5	0,6	0,2
<u>2ème répétition</u>								
60 W.m ⁻² + rouge sombre	42	4	69	17	4	3,8	0,6	0,2
60 W.m ⁻² + rouge clair	39	5	67	15	5	1,8	0,5	0,2
60 W.m ⁻² + obscurité	37	6	60	15	4	3,7	0,5	0,2
10 W.m ⁻²	35	7	65	19	5	3,1	0,6	0,2
Serre	42	7	72	17	4	8,0	0,6	0,3

Tableau 1.B.3. Analyses minérales des bananiers in vitro. Teneurs en éléments (Groupe d'expériences N°1)

Partie végétale et traitement	Poids du bananier			% m.s.					ppm m.s.		
	Matière fraîche	Matière sèche	% m.s.	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
Bananiers entiers (15)											
60 W.m ⁻² + rouge sombre	3,37	180	5,3	4,50	0,380	4,14	0,357	0,128	525	259	112
60 W.m ⁻² + rouge clair	3,10	173	5,6	4,97	0,424	4,56	0,449	0,144	598	303	134
60 W.m ⁻² + obscurité	3,18	187	5,9	5,00	0,427	4,54	0,418	0,143	494	308	129
10 W.m ⁻²	3,41	150	5,3	5,13	0,391	4,28	0,402	0,132	555	276	107
Serre	2,81	160	5,7	4,65	0,425	3,86	0,348	0,119	644	261	136
Racines (34 bananiers)											
60 W.m ⁻² + rouge sombre	1,04	63	61	2,60	0,308	3,41	0,216	0,074	1174	94	115
60 W.m ⁻² + rouge clair	0,90	60	67	2,78	0,330	3,96	0,219	0,071	1289	94	152
60 W.m ⁻² + obscurité	0,95	62	6,5	2,79	0,333	4,32	0,215	0,073	1166	91	155
10 W.m ⁻²	1,07	65	6,1	3,11	0,356	4,39	0,187	0,072	1178	104	160
Serre	0,93	60	6,5	3,51	0,435	4,04	0,203	0,076	1320	112	158

Tableau 1.B.4. Analyses minérales des bananiers in vitro. Quantités d'éléments contenues dans un plant. (Groupe d'expériences N°1)

Partie végétale et traitement	mg					mg		
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
Bananiers entiers								
60 W.m ⁻² + rouge sombre	8,1	0,68	7,5	0,70	0,23	0,096	0,047	0,020
60 W.m ⁻² + rouge clair	8,6	0,73	7,9	0,78	0,25	0,103	0,052	0,023
60 W.m ⁻² + obscurité	9,4	0,80	8,5	0,78	0,27	0,092	0,055	0,024
10 W.m ⁻²	9,2	0,70	7,7	0,72	0,24	0,100	0,050	0,023
Serre	7,4	0,68	5,6	0,56	0,19	0,103	0,042	0,022
Racines								
60 W.m ⁻² + rouge sombre	1,6	0,19	2,2	0,14	0,05	0,074	0,006	0,007
60 W.m ⁻² + rouge clair	1,7	0,20	2,4	0,13	0,04	0,077	0,006	0,009
60 W.m ⁻² + obscurité	1,7	0,21	2,5	0,13	0,05	0,072	0,006	0,010
10 W.m ⁻²	2,0	0,23	2,9	0,12	0,05	0,077	0,007	0,010
Serre	2,1	0,26	2,4	0,12	0,05	0,079	0,007	0,010

2. Groupe d'expériences N°2

Analyses des milieux gélosés et des vitroplants en fin d'expérimentation.

Tableau 2.1. Teneurs en sucres (g/100 g) des milieux après culture ou conservés dans les mêmes conditions mais sans bananiers (Groupe d'expériences N°2)

Milieu par traitement	Fructose	Glucose	Saccharose	Total
60 W.m ⁻² Gélose seule (vierge)	0,34	0,67	3,36	4,37
(après culture)	1,26	1,47	1,72	4,45
60 W.m ⁻² Gélose + (vierge)	0,25	0,59	3,74	4,58
Charbon actif (après culture)	1,22	1,30	1,51	4,03
10 W.m ⁻² Gélose seule (vierge)	0,25	0,59	3,53	4,37
(après culture)	1,39	1,60	1,60	4,59
10 W.m ⁻² Gélose + (vierge)	0,50	0,67	3,28	4,45
Charbon actif (après culture)	1,26	1,51	1,39	4,16
Serre Gélose seule (vierge)	0,25	0,59	3,53	4,37
(après culture)	1,09	1,43	1,55	4,07
Serre Gélose + (vierge)	0,25	0,42	3,78	4,45
Charbon actif (après culture)	1,05	1,26	1,97	4,29

Tableau 2.2. Analyses minérales des milieux de culture (mg/100 g) - Influence de l'énergie fournie et de la présence ou non de charbon actif. (Groupe d'expériences N°2)

Cultivé en	Milieu	Intensité lumineuse	Solution	mg/100 g							
				N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
Tubes	Gélosé	60 W m ⁻²	Vierge	69	7	86	13	7	1,3	0,7	0,5
			Après culture	36	4	70	14	8	0,9	0,5	0,3
"	Gélosé + charbon actif	60 W m ⁻²	Vierge	66	7	87	13	7	1,2	0,6	0,4
			Après culture	36	4	73	12	7	1,1	0,5	0,3
"	Gélosé	10 W m ⁻²	Vierge	68	7	82	12	6	1,1	0,7	0,5
			Après culture	41	5	73	15	10	0,9	0,5	0,5
"	Gélosé + charbon actif	10 W m ⁻²	Vierge	65	7	88	13	7	1,3	0,6	0,5
			Après culture	38	4	71	12	5	1,3	0,5	0,3
"	Gélosé	Serre	Vierge	66	5	86	13	9	1,5	0,7	0,5
			Après culture	36	4	65	13	8	0,8	0,5	0,4
"	Gélosé + charbon actif	Serre	Vierge	67	7	89	13	7	1,3	0,6	0,3
			Après culture	40	4	74	13	5	1,3	0,5	0,3
Boîtes de Pétri	Gélosé	60 W m ⁻²	Vierge	94	11	137	22	10	1,6	1,0	0,5
		10 W m ⁻²	Vierge	85	10	121	18	7	1,2	0,8	0,4
		Serre	Vierge	233	29	322	48	16	2,2	2,1	1,2

Tableau 2.3. Bananiers en culture in-vitro - Influence de l'énergie fournie et de la présence ou non de charbon actif. Teneurs en éléments minéraux des Racines des bananiers en fin de culture. (Groupe d'expériences N°2)

Cultivé en	Milieu	Intensité lumineuse	% m.s/m.f.	% m.s.					ppm m.s.		
				N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
Tubes	Gélosé	60 W m ⁻²	5,8	2,79	0,358	3,71	0,208	0,085	993	68	172
"	Gélosé + charbon actif	60 W m ⁻²	5,7	3,21	0,367	4,18	0,183	0,080	937	57	172
"	Gélosé	10 W m ⁻²	5,4	2,87	0,351	3,94	0,196	0,081	963	68	161
"	Gélosé + charbon actif	10 W m ⁻²	6,0	3,07	0,359	4,23	0,182	0,079	955	69	193
"	Gélosé	Serre	5,7	2,91	0,363	3,87	0,205	0,081	1038	72	152
"	Gélosé + charbon actif	Serre	6,2	3,19	0,376	4,17	0,202	0,082	991	66	170
Boîtes de Petri	Gélosé	60 W m ⁻²	6,6	1,04	0,163	1,87	0,216	0,071	217	54	68
		10 W m ⁻²	8,8	1,07	0,170	1,96	0,269	0,079	194	82	64
		Serre	7,5	1,22	0,183	1,99	0,288	0,089	186	103	62

Tableau 2.4. Bananiers en culture in-vitro. Influence de l'énergie fournie et de la présence ou non de charbon actif. Teneurs en éléments minéraux des bananiers en fin de culture : Partie aérienne. (Groupe d'expériences N°2)

Cultivé en	Milieu	Intensité lumineuse	% m.s/m.f.	% m.s.					ppm m.s.		
				N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
Tubes	Gélosé	60 W m ⁻²	6,3	6,78	0,490	4,60	0,495	0,167	204	417	149
"	Gélosé + charbon actif	60 W m ⁻²	7,0	6,82	0,521	4,83	0,482	0,173	197	399	169
"	Gélosé	10 W	6,2	6,37	0,498	4,38	0,499	0,170	233	407	136
"	Gélosé + charbon actif	10 W	6,5	6,52	0,482	4,35	0,485	0,175	237	369	138
"	Gélosé	Serre	7,1	6,72	0,519	4,80	0,477	0,169	225	379	183
"	Gélosé + charbon actif	Serre	6,3	6,82	0,479	4,61	0,503	0,179	232	403	142
Boîtes de Petri	Gélosé	60 W m ⁻²	7,8	4,38	0,350	2,89	0,485	0,169	64	335	61
	Gélosé	10 W	7,1	4,93	0,435	3,42	0,553	0,209	95	379	74

Cultivé en	Milieu	Intensité lumineuse	g		mg 10 ⁻³							
			Poids de la matière fraîche	Poids de la matière sèche	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
Tubes	Gélosé	60 W m ⁻²	1,22	0,070	1,95	0,25	2,60	0,15	0,06	70	5	12
"	Gélosé + charbon actif	60 W m ⁻²	1,09	0,062	1,99	0,23	2,59	0,11	0,05	58	4	11
"	Gélosé	10 W m ⁻²	1,36	0,073	2,10	0,26	2,88	0,14	0,06	70	5	12
"	Gélosé + charbon actif	10 W m ⁻²	0,94	0,056	1,72	0,29	2,37	0,10	0,04	53	4	11
"	Gélosé	Serre	1,29	0,073	2,12	0,26	2,83	0,15	0,06	76	5	11
"	Gélosé + charbon actif	Serre	1,02	0,063	2,01	0,24	2,63	0,13	0,05	62	4	11
Boîtes de Petri	Gélosé	60 W m ⁻²	3,02	0,200	2,08	0,33	3,74	0,43	0,14	43	11	14
		10 W m ⁻²	2,43	0,213	2,28	0,36	4,17	0,57	0,17	41	17	14
		Serre	3,33	0,251	3,06	0,46	4,99	0,72	0,22	47	26	16

[illegible]

Tableau 2.7. Bananiers en culture in vitro. Influence de l'énergie fournie et de la présence ou non de charbon actif. Quantités d'éléments contenus dans un bananier entier. (Groupe d'expériences N°2)

Cultivé en	Milieu	Intensité lumineuse	g		mg						mg 10 ⁻³	
			Poids de la matière fraîche	Poids de la matière sèche(%)	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
Tubes	Gélosé	60 W	2,55	0,154(6,0)	7,65	0,66	6,46	0,57	0,20	87	40	25
	Gélosé + charbon actif	60 W	2,02	0,127(6,3)	6,42	0,57	5,73	0,42	0,16	71	30	22
"	Gélosé	10 W	2,42	0,138(5,7)	6,24	0,58	5,73	0,46	0,17	85	31	21
	Gélosé + charbon actif	10 W	2,38	0,147(6,2)	7,65	0,64	6,33	0,54	0,20	75	38	24
"	Gélosé	Serre	2,69	0,173(6,4)	8,84	0,78	7,63	0,63	0,23	99	43	29
	Gélosé + charbon actif	Serre	2,34	0,146(6,2)	7,67	0,64	6,46	0,55	0,20	81	37	23
Boîtes de Petri	Gélosé	60 W	4,19	0,291(6,9)	6,07	0,65	6,37	0,87	0,29	49	41	20
		10 W	3,25	0,271(8,3)	5,14	0,61	6,15	0,89	0,29	47	39	18
		Serre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3. Groupe d'expériences N°3

Analyses des milieux gélosés et des vitroplants en fin d'expérimentation.

Tableau 3.1. Teneurs en sucres (g/l) des milieux vierges ou après culture. Influence du rythme jour-nuit et du type de bouchage des tubes. (Groupe d'expériences N°3)

Intensité lumineuse	Rythme jour/nuit	Bouchage des tubes	Milieu	Fructose	Glucose	Saccharose	Total
60 W m ⁻²	12 - 12	cellulose	Vierge	10,7	14,5	37,0	62,2
			Après culture	21,0	21,8	13,4	56,2
60 W m ⁻²	16 - 8	verre	Après culture	16,8	18,1	6,7	41,6
			Vierge	7,1	5,5	45,4	58,0
		cellulose	Après culture	20,1	21,4	8,8	50,3
			Vierge	15,1	15,5	7,6	38,2
60 W m ⁻²	20 - 4	verre	Après culture	5,0	5,9	43,7	54,6
			Vierge	19,7	20,6	8,8	49,1
		cellulose	Après culture	15,1	16,0	8,0	39,1
			Vierge	5,0	5,0	47,0	57,0
10 W m ⁻²	12 - 12	verre	Après culture	19,3	21,4	9,2	49,9
			Vierge	15,5	16,4	8,4	40,3
		cellulose	Après culture	5,0	3,8	39,1	47,9
			Vierge	16,0	15,5	11,3	42,8
		verre	Après culture	15,1	16,4	10,9	42,4
			Vierge				
Serre		cellulose	Après culture				
			Vierge				

Tableau 3.2. Analyses minérales des milieux de culture (mg/100 g). Influence du rythme jour-nuit et du mode de bouchage des tubes sur l'évolution du milieu après culture. (Groupe d'expériences N°3)

Intensité lumineuse	Rythme jour/nuit	Bouchage des tubes	mg / 100 g							
			N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
60 W m ⁻²	12 - 12	cellulose	41	6,8	95	16,0	8,0	0,8	0,5	0,7
		verre	30	4,9	70	14,6	6,5	0,9	0,4	0,3
	16 - 8	cellulose	38	6,5	88	15,8	7,0	0,7	0,5	0,5
		verre	21	3,9	71	11,8	5,0	0,8	0,4	0,3
	20 - 4	cellulose	32	6,5	84	15,8	6,5	0,6	0,4	0,3
		verre	25	3,9	89	10,5	3,5	0,6	0,4	0,3
10 W m ⁻²	12 - 12	cellulose	47	7,3	89	13,5	7,0	0,6	0,5	0,3
		verre	36	5,0	72	11,3	6,0	0,6	0,5	0,2
Serre		cellulose	46	6,5	78	11,2	7,0	0,6	0,4	0,3
		verre	31	5,3	63	9,6	6,0	0,6	0,4	0,3

Tableau 3.3. Analyses minérales des bananiers in vitro. Influence du rythme jour/nuit et du mode de bouchage des tubes sur les teneurs en éléments minéraux. (Groupe d'expériences N°3)

Intensité lumineuse	Rythme jour/nuit	Bouchage des tubes	%ms/mf	% m.s.					ppm m.s.		
				N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
60 W m ⁻²	12 - 12	cellulose	7,7	4,58	0,454	4,37	0,430	0,157	368	286	137
		verre	6,1	4,68	0,442	4,08	0,378	0,143	458	243	154
60 W m ⁻²	16 - 8	cellulose	7,4	4,63	0,450	4,41	0,434	0,164	387	305	140
		verre	5,6	4,63	0,430	4,53	0,411	0,156	372	256	142
60 W m ⁻²	20 - 4	cellulose	6,7	3,67	0,393	3,67	0,386	0,145	340	249	122
		verre	5,2	3,80	0,369	3,68	0,382	0,148	348	219	110
10 W m ⁻²	12 - 12	cellulose	6,6	4,47	0,422	4,10	0,402	0,132	386	282	132
		verre	5,0	4,24	0,384	3,85	0,364	0,134	394	223	131
Serre		cellulose	6,9	5,37	0,445	4,35	0,404	0,136	459	300	141
		verre	5,7	5,04	0,389	3,89	0,354	0,124	415	245	141

Tableau 3.4. Influence du rythme jour-nuit et du mode de bouchage des tubes sur les masses d'éléments immobilisés par un bananier en culture in-vitro (Groupe d'expériences N°3)

Intensité lumineuse	Rythme jour/ nuit	Bouchage des tubes	Poids		mg					mg 10 ⁻³		
			de la matière fraîche (mg)	de la matière sèche (mg)	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
60 W m ⁻²	12 - 12	cellulose	3 913	301	13,8	1,37	13,2	1,29	0,47	110	86	41
		verre	3 900	238	11,1	1,05	9,7	0,90	0,34	109	58	37
60 W m ⁻²	16 - 8	cellulose	4 140	306	14,2	1,38	13,5	1,33	0,50	118	93	43
		verre	5 391	302	14,0	1,30	13,7	1,24	0,47	112	77	43
60 W m ⁻²	20 - 4	cellulose	5 932	397	14,6	1,56	15,3	1,53	0,57	135	99	48
		verre	6 570	342	13,0	1,26	12,6	1,31	0,51	119	75	38
10 W	12 - 12	cellulose	3 390	224	10,0	0,95	9,2	0,90	0,30	87	63	30
		verre	4 580	229	9,7	0,88	8,8	0,83	0,31	90	51	30
Serre		cellulose	2 910	201	10,8	0,89	8,7	0,83	0,27	91	60	28
		verre	4 200	239	12,0	0,93	9,3	0,85	0,30	99	59	34

ANNEXE V

UNITES DE MESURE DE LA LUMIERE

Unités d'énergie. Des unités standard sont utilisées pour quantifier l'énergie de la lumière. La quantité d'énergie radiante émise par une source lumineuse, par unité de temps, est appelée flux radiant. Le flux radiant par unité d'aire est connu comme la densité du flux radiant, et celui intercepté par unité d'aire est l'irradiance. Ces concepts sont illustrés schématiquement dans la figure 5.1. L'irradiance est un terme en anglais. Il peut être exprimé comme la puissance lumineuse par unité de surface (p.ex. W.m^{-2}) ou simplement intensité lumineuse (GEORGE et SHERRINGTON, 1984, MARGARA, 1982).

L'intensité est l'énergie provenant d'un point de la source de radiation. Du fait que l'énergie d'un tel point est émise vers toutes les directions, son intensité est mesurée indépendamment de la distance, comme l'énergie émise par unité de temps, par angle solide (steradian). Il y a 4π (12,57) steradians par esphère et donc pour le flux radiant provenant d'un point d'une source de 1 W/sr d'intensité, est 12,57 W.

Unités de quantums. L'énergie radiante en forme d'onde est émise en quantités discrètes indivisibles appelées "quanta" ou "photons". La très petite quantité d'énergie présente dans chaque photon est inversement proportionnelle à la longueur d'onde de la radiation. Les unités des quantums sont particulièrement adaptées à mesurer la lumière dont l'énergie peut être utilisée par les réactions photochimiques, spécialement par la photosynthèse.

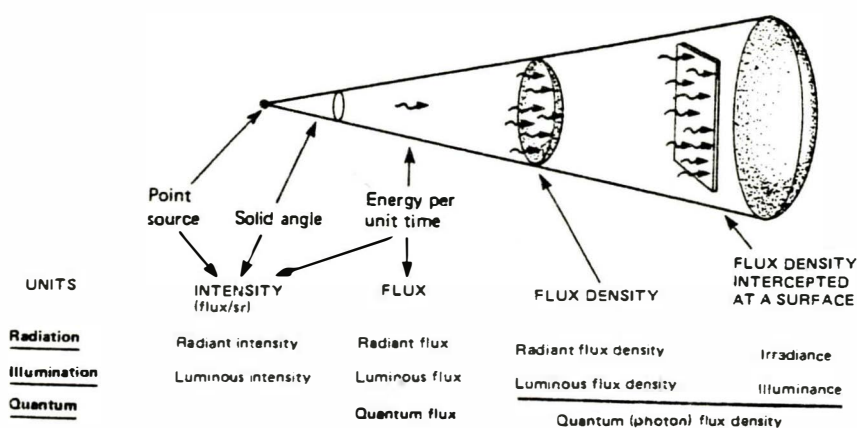


Figure 5.1. Représentation des termes utilisés pour décrire les unités de mesure de la lumière. (D'après George et Sherrington, 1984).

Les quanta sont mesurés en Einsteins ou moles, un Einstein étant défini (E) comme $6,02 \times 10^{23}$ quanta. Une réaction photochimique requérant un quantum par molécule, nécessite un Einstein par molécule grame. La densité de flux de quanta (ou photons) dans une surface est équivalente à l'irradiance mesurée en unités standard d'énergie.

La photosynthèse est énergisée par la lumière des différentes longueurs d'onde entre 400 nm et 700 nm et celle-ci est appelée radiation photosynthétiquement active (PAR). Le terme densité photosynthétique est quelques fois utilisé pour décrire la densité de flux de photons de la lumière entre 400 et 700 nm.

Unités d'illumination. Le flux lumineux (le passage de lumière par unité de temps) est mesuré en lumens ; l'intensité lumineuse (flux d'énergie lumineuse par angle solide) est mesurée en lumens par stéradian, ou par le terme équivalent, candela. La lumière visible interceptée par unité d'aire est connue comme illuminance (ou illumination), qui correspond à l'irradiance en termes d'énergie. L'illuminance (mesurée en lumens/m^2 ou lux) est donc la densité de flux lumineux sur une surface.

Les tableaux ci-joint résument ces unités de lumière (GEORGE et SHERRINGTON, 1984).

Units and symbols used in the measurement of various light characteristics.

Those in parentheses are equivalent terms.

CHARACTERISTIC	UNIT	SYMBOL
<u>Wavelength</u> (λ)	Nanometer (1 nanometer = 10^{-9} metres)	nm
<u>Energy</u>	Joule Erg Einstein Calorie	J erg E Cal
<u>Energy flux</u>	Watt	W
<u>Luminous flux</u>	(Lumen) (Candela steradians)	lu cd.st.
<u>Radiant intensity</u>	Watts per steradian	W/st
<u>Luminous intensity</u>	(Candela (replaces candle)) (Lumens per steradian)	Cd (Candle = c) lu/st
<u>Illuminance</u> (Illumination) (Luminous flux density at a surface)	Lumen per square foot (or Foot candle) (Lux) (Lumen per square metre)	lu/ft ² <u>or</u> lu.ft ⁻² (ft.c.) lx lu/m ² <u>or</u> lu.m ⁻²
<u>Incident radiant flux</u> <u>Irradiance</u> (Radiant flux density at a surface)	(Watts per square metre) (Joules per square metre per second) Ergs per square metre per second	W/m ² <u>or</u> W.m ⁻² J/m ² /s <u>or</u> J.m ⁻² .s ⁻¹ erg/m ² /s <u>or</u> erg.m ⁻² .s ⁻¹
<u>Quantum (Photon) flux density</u>	Einsteins per square metre per second	E/m ² /s <u>or</u> E.m ⁻² .s ⁻¹

NB. Metric prefixes are normally used. For example, area is usually given in cm² not m², and quanta in μ E or ME rather than E, etc. The candela is the S.I. unit of intensity and has a clearly defined source.

Factors for converting between light units commonly found in plant tissue culture literature.

Units of Energy

1 erg = 1×10^{-7} joules

1 cal = 4.185 joules

Energy of 1 E = $1.2 \times 10^8/\lambda$ joules

(an Einstein is 1 mole of photons, and the energy it provides therefore varies with wavelength in nm).

Units of Illuminance

1 foot candle = 10.764 lux or lumen/m²

1 candle (standard) = 0.02 watts.

Units of Luminous flux

1 candlepower = 4π lumens

Units of Irradiance

1 erg/cm²/s = 1×10^{-3} W/m²

1 μ E/m²/s = 0.215 W/m²

N.B. In order to convert in the opposite direction, take reciprocals, e.g.

1 erg = 1×10^{-7} J,

1 J = $1/1 \times 10^{-7} = 10^7$ erg.

Comparison between units of Illuminance and units of Incident Radiant Flux.

Approximate conversion factors are given for three fluorescent light sources that are commonly used in plant tissue culture growth rooms (after McCree, 1972).

To convert from lux (units of illuminance), into Irradiance or Quantum Flux Density units, divide lux by the following figures, depending on the type of fluorescent lighting tube:

Units	Warm white	Cool white	Grolux	Units	Warm white	Cool white	Grolux
W/m ² = J/m ² /s	390	370	280	erg/mm ² /s	39	37	25
nW/cm ²	3900	3700	2800	erg/cm ² /s	0.39	0.37	0.28
μ W/cm ²	3.9	3.7	2.8	μ E/m ² /s	83	80	59
nW/dm ²	39	37	28	μ E/cm ² /s	8.3×10^5	8.0×10^5	5.9×10^5

N.B. These figures are approximate and should only be used for rough comparisons. Exact conversions vary according to wavelength, and so cannot be given for multiple band light sources. The spectral emission of different makes of tube is also variable.

ANNEXE VI

Description tabulaire du genre Musa spp. (TURNER et HACKETT, 1985)

Musa spp., section Eumusa

TAXONOMY AND COVERAGE

Family : Musaceae
Class/sub-class : Monocotyledones

Scientific synonym :
English common names : banana

Geographic coverage below : worldwide

LOCATION

Latitudinal range : 35 N to 31 S
Countries : many -e.g.Colombia,
Ecuador,India,Jamaica,Uganda.
Habitat : terrestrial
Max.elevation (m) : 2150 at 6°S
Max.slope (°) : 45
Exposure (Y/N) :
frequent strong winds - no
salt-laden winds - yes

GENERAL BOTANY

Growth habit : erect herbaceous perennial
Max.height (m) : 2 to 9
Spininess,roughness (0-9) : 0
Max.depth of root system :? to 150
(cm)
Fibrous root zone (cm from
soil surface) : 0 to 30
Life-spans :
natural : 50 to 100 yr
cultivated : 3 to 20 yr
Biomass : 4 to 16 kg/plant (approx.
38% fruit,25% leaves,21% pseudostem,
8% corm,and 8% roots at harvest)

Chromosome numbers :
basic (x) : 11
somatic : 22,33,44
Ease of crossing with other spp. in
genus (0-9) : 2
Existence of wild forms (Y/N) ? yes
Pollination :
mode (s) : see General Botany module
agent(s) : " "

Propagation :
natural - corm,rhizome,sucker
artificial-cuttings,apical meristem

USES

Chemical : dye
Farming,landscaping,conservation :
agroforestry, animal, feed,intercrop,
mixed crop,mulch,shading (plants),
windbreak.

Human consumption :
drinks,flour/starch,fruit,vegetable.

Other :
containers, fibre(cordage,textiles),
padding, roofing
Nuisance properties :

CLIMATE

Life-cycle considered : perennial

Range of light receipts :
6600-8100 MJ/m²/yr (1)

Range of rainfall receipts in non-
irrigated areas (mm) :
650 to 4000

Confined to totally or virtually
frost-free areas (Y/N) ? : yes
Range of mean temperatures experien-
ced (°C) :
15 to 32

LIGHT RELATIONSHIPS

Photoperiodic response : DN
Photosynthetic pathway : C₃
Shade requirement under high light
intensity (0-9) : 0(2)
Shade tolerance after establishment
(0-9) : 3,4,5

TEMPERATURE RELATIONSHIPS

Lowest plant temperature tolerated
for prolonged periods (°C):
leaves -12 flowers - 12 fruit - 12
underground storage organ-n.a. res-
ting state - n.a.

Requirement for cold :
Y/N - no (if 'yes' reason)
Highest plant temperature tolerated
for prolonged periods (°C) :
leaves-37 flowers-37 ? fruit-38
underground storage organ -n.a. res-
ting state -n.a.

Cardinal temperatures (°C) :
Growth period/process Min. Opt. Max.
(a) pl'g to harvest 12 27 37
(b)
(c)
(d)

Musa spp. section Eumusa cont.

TERRAIN AND SOIL SUITABILITIES

Slope without terracing, degrees (0-9) :
 0-7 5 to 10 - 7 15 to 25 - 4 ?
 1 to 5-7 10 to 15 25 - 2 ?

Soil compaction extremes (0-9) :
 very loose-3 very sticky-1
 hard layers-1

Soil depth, cm (0-9) :
 0 to 5 - 0 25 to 50 - 5 200 - 9
 5 to 10 - 1 50 to 100 - 7
 10 to 25 - 3 100 to 200 - 8

Soil drainage :
 Excessive - 6 moderate - 5 swampy - 0
 fast - 7 slow - 3

Soil pH, with commonly related conditions :
 optimum range - 6.5 to 7.0
 extreme " 4.5. to 8.4.

Soil salinity (0-9) :

Salinity (mmhos/cm)	Limitation to growth	Benefit to growth
0 to 4 (v. low)	0	0
4 to 8 (low)	1 to 4	0
8 to 15 (mod.)	5 to 9	0
15	9	0

Soil texture, range within broad texture-groups (0-9) :
 Clays - 3 to 5
 Loams - 6 to 8
 Sands - 4 to 5 organic - 5 to 6
 Silts - 5 to 6 rocky, stony - 4 to 5

NUTRITIONAL RELATIONSHIPS

Suitability of fertility levels (0-9) :
 Criteria of performance
 (1) yield of fruit (2)

Fertility level	Suitabilities
	Criterion 1 Criterion 2
High	7 -
Moderate	6 -
Low	4 -
Very low	3 -
Extremely low	1 -

WATER RELATIONSHIPS

General suitability of various soil water balances (0-9) :
 -ve -ve zero +ve ++ve

Leaf growth
 - tolerance 2 4 7 6 2
 - benefit 0 3 7 5 1

Other (i.e. -)
 -tolerance
 -benefit

Drought requirement :
 Water stress beneficial at some stage (Y/N) ? - no
 Drought survival, overall rating (0-9) : 5 to 6

Humidity :
 importance of high humidity at some stage (0-9) - 5
 importance of low humidity at some stage (0-9) - 0

Inundation :
 tolerance of 30 cm depth for 1 week (0-9) : 2

Water-table :
 minimum distance from soil-surface (cm) - 100

WIND

Harm caused by gales of fierce gusts (0-9) :
 lodging, uprooting - 5 to 9⁽³⁾ leaf damage - 6

Harm caused by salt in the wind (0-9):5
 Requirement for wind for pollination (0-9) : 0

RELATIONS WITH OTHER ORGANISMS

Approx. no. of spp. causing serious damage or poor growth :
 algae - insects - 5
 bacteria -1 nematodes - 4
 fungi -10 spider, smites - 1
 Higher animals - viruses - 4
 Higher plants -

Organisms helpful for pollination: n.a.
 Other helpful organisms, apart from N. fixers : shade species.

Key nutrient ratios :

Criterion 1 - K:N Criterion 2

Species is a nitrogen-fixer (Y/N) ? : no

Species has mycorrhiza aiding nutrient absorption (Y/N) ? : n.i.

Sensitivity to micronutrient deficiency (0-9) :

B - 1 to 2 Fe - 2 to 3 Mo-0 to 0

Cu - 4 to 6 Mn - 2 to 3 Zn-5 to 7

Sensitivity to metal toxicity (0-9) :

Al - to n.i. Cu - 5 to 6 Mn - n.i. to 3

EXPLANATORY NOTES

(1)

Data for locations in Australia. Lower levels are probably experienced in cloudy locations, such as in Ecuador.

(2)

See note 2 on p. 26

(3)

Depends on height of cultivars.

